

UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI
UFVJM

TATIANE CARLA REIS

EFEITO DE HERBICIDAS UTILIZADOS PARA A CULTURA DO MILHO
NA REPRODUÇÃO DE *Podisus nigrispinus* (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE)

DIAMANTINA
MINAS GERAIS – BRASIL
2014

TATIANE CARLA REIS

**EFEITO DE HERBICIDAS UTILIZADOS PARA A CULTURA DO MILHO
NA REPRODUÇÃO DE *Podisus nigrispinus* (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Aprovada em:

Prof. José Barbosa dos Santos

Prof. Germano Leão Demolin Leite

Profa. Conceição Aparecida dos Santos

Marcus Alvarenga Soares
Orientador

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela força. Sinto sua presença sempre do meu lado, obrigada. Aos meus alicerces, Sebastião e Ana, caminho sempre pensando em vocês, na esperança de um dia retribuir tudo o que vocês fazem por mim. Ao Giovanny e as minhas irmãs, Lorene e Wilma, valeu pela torcida. Vovó Elmita, peço desculpas pela ausência, mas saiba que valeu a pena.

À Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM) e ao Departamento de Agronomia pela oportunidade de realização do meu curso de mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

Ao meu amigo e eterno orientador, Marcus Alvarenga Soares, pela sua orientação, apoio, incentivo e pelas correções, confesso que vou sentir saudade delas.

Aos professores José Barbosa, Conceição e Lourenço pela forma gentil com que me trataram e pelos aconselhamentos durante o planejamento e execução desse trabalho. Ao prof. José Eduardo Serrão e ao prof. Paulo César pela valiosa contribuição.

Ao Júlio Poderoso pela ajuda no desenvolvimento do projeto. Aos colegas Cristiana, Victor Hugo, Tuchê, Silma, Samuel Giordani e Ana Flávia e ao Christiano meu eterno obrigada, valeu pela ajuda durante o experimento e pelo agradável convívio.

Aos amigos, que estiveram por perto no dia a dia, e tornaram meus momentos em Diamantina mais agradáveis e felizes. Em especial, agradeço a Miris, o Avatar e a Nubinha foi pouco tempo, mas valeu, jamais vou esquecer vocês.

As meninas da república Formigueiro, já estou com saudades, foram altos papos. Tenho muito para agradecer, tem muita gente boa que aceitou minha presença em muitos momentos, nos divertimos. A todos vocês, meu muito obrigada. E até um dia, quem sabe.

“Sou muito grata às adversidades que me apareceram, elas me ensinaram a ter mais tolerância, simpatia, autocontrole, e sempre perseverar e outras qualidades que, sem as adversidades eu jamais me descobriria”

Napoleon Hill

ÍNDICE

RESUMO	6
ABSTRACT	8
1. INTRODUÇÃO	10
1.1. A produção de milho e a biodiversidade	10
1.2. Controle biológico na cultura do milho	15
1.3. Reprodução de <i>Podisus nigrispinus</i> (Heteroptera: Pentatomidae)	17
2. REFERÊNCIA	22
3. CAPÍTULO I	31
Resumo	31
Abstract	33
1. Introdução	34
2. Materiais e Métodos	35
3. Resultados	38
4. Discussão	39
Agradecimentos	43
Referências	44
3. CAPÍTULO II	52
Resumo	52
Abstract	53
1. Introdução	55
2. Materiais e Métodos	56
3. Resultados	58
4. Discussão	60
Agradecimentos	62
Referências	63
CONSIDERAÇÕES FINAIS	69

RESUMO

O milho [*Zea mays* L. (Poaceae)] é uma cultura de importância mundial. Durante o crescimento e desenvolvimento dessa cultura, outras plantas podem interferir e competir por água, luz e nutrientes, sendo estas consideradas daninhas e um dos principais entraves a produção. Por outro lado, os artrópodes benéficos ou pragas podem possuir uma interação positiva com essas plantas. Além dos benefícios como fonte alternativa de alimento, essas plantas são capazes de melhorar o *fitness* dos inimigos naturais. O controle das plantas daninhas, na cultura do milho, é mais eficiente com o uso dos herbicidas, porém estas substâncias são capazes de interferir em rotas metabólicas não alvo presentes nos inimigos naturais. O objetivo deste trabalho foi verificar o efeito dos herbicidas, atrazine, nicosulfuron e mistura destes, sobre as seguintes características de *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae): i) o comportamento de cópula, ii) a dinâmica reprodutiva das fêmeas, e iii) a morfologia e a histologia das estruturas reprodutivas das fêmeas. Aos quatro dias de idade, quinze fêmeas adultas de *P. nigrispinus*, por tratamento, receberam a dose comercial de 1,5 g L⁻¹ atrazine; 0,3 g L⁻¹ nicosulfuron; 1,5 g L⁻¹ + 0,3 g L⁻¹, atrazine + nicosulfuron. Após seis horas de exposição, as fêmeas foram transferidas para placas de Petri (10 cm), com um macho de *P. nigrispinus* para cada fêmea. Foi observado por 24 horas o comportamento e a duração de cópula de cada casal deste predador. Após o período de 24 horas foi observado possíveis alterações no comportamento de cópula das fêmeas. Sete dias após a sua emergência, três fêmeas de *P. nigrispinus* oriundas de cada tratamento foram dissecadas. Foi observado o desenvolvimento e maturação dos ovócitos, a contagem do número de ovócitos maduros e imaturos, o número de

ovariolos e comparações da histologia das estruturas reprodutivas. Para as demais fêmeas foram avaliados os parâmetros biológicos: longevidade das fêmeas, período de pré-oviposição, período de oviposição, período de pós-oviposição, número de ovos por tratamento, fecundidade (número total de ovos viáveis). A duração dos acasalamentos, nas primeiras 24 horas, a longevidade, a morfologia e a histologia das estruturas reprodutivas, independente dos tratamentos, não diferiram. Porém, fêmeas de *P. nigrispinus*, expostas a misturas destes herbicidas, não apresentaram predisposição à cópula nas primeiras 24 horas, onde somente duas fêmeas deste tratamento copularam. Fêmeas expostas aos herbicidas, atrazine, nicosulfuron e mistura, apresentaram ovariolos com menor número de ovócitos, sendo em sua maioria ovócitos imaturos. A quantidade de ovócitos encontrado em cada ovaríolo pode ser relacionada com a fertilidade da fêmea, desta forma a ovogênese foi menor nas fêmeas de *P. nigrispinus* tratadas com herbicidas. Assim, é possível afirmar que os herbicidas testados foram seletivos para as fêmeas de *P. nigrispinus*, por não afetar sua longevidade. No entanto, é possível que a síntese do hormônio juvenil tenha sido afetada, alterando as taxas reprodutivas desta espécie.

ABSTRACT.

The corn [*Zea mays* L. (Poaceae)] is a crop of global importance. During the growth and development of this culture, other plants can interfere and compete for water, light and nutrients, which are considered weeds and a major constraint to production. Moreover, the beneficial arthropod pests or may have a positive interaction with such plants. In addition to the benefits as an alternative food source, these plants are able to improve the fitness of natural enemies. The control of weeds in corn, is more efficient with the use of herbicides, but these substances are capable of interfering with metabolic pathways present in non-target natural enemies. The objective of this study was to investigate the effect of herbicides atrazine, nicosulfuron and mixture thereof, on the following characteristics of *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae): i) the behavior of copulation, ii) the dynamics of reproductive females, and iii) the morphology and histology of the female reproductive structures. At four days of age, fifteen adult females of the predator by treatment received a commercial dose of 1.5 g L⁻¹ atrazine , 0.3 g L⁻¹ nicosulfuron , 1.5 g L⁻¹ + 0.3 g L⁻¹ atrazine + nicosulfuron . After six hours of exposure , the females were transferred to Petri dishes (10 cm) , with a male of the predator for each female. Was observed for 24 hours uninterrupted behavior and duration of copulation of each couple this predator. After 24 hours the possible behavior changes was observed in the mating the females. Seven days after their emergence, three females of the predator coming from each treatment were dissected. The development and maturation of oocytes, counting the number of mature and immature oocytes, the number of ovarioles and comparisons of histology of reproductive structures was observed. Female longevity, pre-oviposition,

oviposition period, post-oviposition period, number of eggs per treatment, fecundity (total number of viable eggs): For other females biological parameters were evaluated. The duration of mating, the first 24 hours, longevity, morphology and histology of the reproductive structures, regardless of the treatments did not differ. However, females of the predator exposed to mixtures of these herbicides showed no predisposition to copulation in the first 24 hours, where only two females mated this treatment. Females exposed to herbicides, atrazine, and nicosulfuron mixture showed ovarioles with fewer oocytes, with the most immature oocytes. The number of oocytes in each ovariole found may be related to female fertility, thereby oogenesis was lower in females of the predator treated with herbicides. Thus, we can say that the herbicides were selective for females of the predator, not to affect their longevity. However, the synthesis of juvenile hormone may have been affected by changing the reproductive rates of the species.

INTRODUÇÃO

1.1. PRODUÇÃO DE MILHO E MANEJO DE PLANTAS DANINHAS

O milho [*Zea mays* L. (Poaceae)] é uma cultura agrícola de importância mundial, possui grande utilização na alimentação humana e animal, destacando-se também como matéria-prima de expressiva importância para uso industrial (Landis et al., 2008; Edgerton, 2009). O Brasil é o terceiro produtor mundial de milho, estando à sua frente os Estados Unidos e a China. Segundo projeções, para os próximos 10 anos, a produção desta cultura no Brasil tende a se expandir consideravelmente, com provável crescimento de 1,6% ao ano (MAPA, 2013).

Em áreas agrícolas de todo o mundo o rendimento do milho pode ser limitado por diferentes fatores, com destaque para o déficit hídrico, disponibilidade de nitrogênio e interferência de plantas daninhas (Gholamhoseini et al., 2013). O déficit hídrico ou a alta taxa de evapotranspiração ativam mecanismos fisiológicos na planta, permitindo que estes vegetais tolerem estas limitações climáticas, modificando seu crescimento e desenvolvimento, reduzindo assim o rendimento dos grãos (Pandy et al., 2000; Gholamhoseinia et al., 2013).

Um aumento na lâmina d'água do solo pode elevar a resposta da produtividade à adubação nitrogenada. O nitrogênio é o nutriente mais importante para o rendimento desta cultura. A deficiência no suprimento de nitrogênio afeta seu o crescimento, o desenvolvimento, o número e peso das espigas (Pandy et al., 2000). As plantas daninhas competem com o milho por nitrogênio e outros nutrientes; também concorrem por água, luz e espaço. Sendo, estas plantas, um dos principais entraves

para a agricultura (Li et al., 2007; Di Paolo & Rinaldi, 2008). Dependendo do tempo e da intensidade de convivência entre as plantas daninhas e o milho, os efeitos dessa interferência são irreversíveis, não havendo recuperação do desenvolvimento ou da produtividade, assim seu controle torna-se um grande desafio para garantir o sucesso da produção (Marshall et al., 2003).

No Brasil, destaca-se ainda a interferência dos insetos pragas sobre a cultura, que em condições de clima tropical, encontram um ambiente ideal para seu desenvolvimento, causando grandes perdas quantitativas e qualitativas (Leite et al., 2011). Para muitos artrópodes fitófagos a planta daninha é a primeira fonte de recurso. Estes artrópodes debilitam as plantas daninhas deixando água, nutrientes e luz solar disponíveis para a planta de cultivo. No fluxo de energia entre os níveis tróficos, as plantas daninhas estão no mesmo nível da cultura, ou seja, toda planta é produtora. Assim, a ocorrência de interações entre as plantas daninhas e os artrópodes benéficos ou pragas é comum (Marshall et al., 2003; Farkas & Singer, 2013).

Além dos benefícios como fonte de nutrientes e energia, as plantas daninhas são capazes de melhorar o *fitness* dos inimigos naturais, como observado nos percevejos das famílias Pentatomidae e Geocoridae (Hamilton, 1964; Norris & Kogan, 2000). Os predadores dessas famílias têm a sobrevivência e a fecundidade melhorada quando alimentam não só da presa, como também das plantas daninhas (Norris & Kogan, 2000; Evangelista-Júnior et al., 2004; Torres et al., 2006).

Estas interações se tornam primordiais quando o artrópode benéfico utiliza a planta daninha como recurso em períodos de escassez de presas. A interação trófica direta ocorre entre as plantas daninhas e artrópodes quando estes alimentam

diretamente delas (Norris & Kogan 2000; Capinera, 2005; Ode, 2008). A interação trófica indireta pode ocorrer em três situações: i) quando o artrópode alimenta da cultura, causando impactos na comunidade de plantas daninhas, provocando alterações na disponibilidade de recursos do ecossistema, ii) ou da utilização das plantas daninhas como plantas hospedeiras para presas alternativas dos insetos benéficos, e iii) ou pela interação tri-trófica: planta – herbívoro – inimigo natural, onde a planta atacada libera compostos voláteis em resposta à injúria causada pelo herbívoro, estes voláteis atraem o nível terciário ou superior, os inimigos naturais (Norris & Kogan, 2000; Moraes et al., 2005; Ode, 2008).

Outra interação de importante ocorrência entre os inimigos naturais e as plantas daninhas se dá pela interação poli-trófica, onde os artrópodes se alimentam de mais de um nível trófico. Apesar da interação comprovada entre as plantas daninhas e artrópodes benéficos, as estratégias que visam o controle de uma ou outra classe de pragas raramente consideram tais relações (Norris & Kogan, 2000).

O manejo das plantas daninhas em sistemas agrícolas tem grande influência sobre a biodiversidade. Se a redução da população de plantas daninhas for considerável, com expressivos impactos sobre o seu potencial reprodutivo, algumas funções do ecossistema são afetadas como a ciclagem de nutrientes, interações tróficas entre a fauna, flora e micro-organismos (Marshall et al., 2003).

O melhoramento das técnicas de controle das plantas daninhas inclui o uso dos herbicidas, que facilita o cultivo de diferentes culturas com um maior rendimento (Marshall et al., 2003; Hough-Goldstein, 2004). O controle das plantas daninhas com uso de herbicidas é necessário para garantir o sucesso no rendimento dos grãos de

milho. Porém, o potencial de dano biológico dos herbicidas vem crescendo, principalmente, com seu uso sem controle, tornando necessário, conhecimentos básicos sobre as populações das plantas daninhas e sua interação com o ambiente (Camilo et al., 2012; Menezes et al., 2012).

Os herbicidas são uma categoria heterogênea de produtos químicos sintetizados, desenvolvidos especialmente para o controle de ervas daninhas, porém podem atingir vários ecossistemas de diversas maneiras a partir da área onde são aplicados (Soltani et al., 2009; Menezes et al., 2012).

O herbicida atrazine é o mais conhecido dentro da classe das triazinas, podendo ser aplicado em pré e pós-emergência para o controle de plantas daninhas de folhas largas e outras Poaceae na cultura do milho, sorgo, pastagens, cana-de-açúcar e outras culturas (Krutz et al., 2012). Tem como mecanismo de ação a inibição do fotossistema II, bloqueando a transferência de elétrons para as membranas dos tilacóides nos cloroplastos. Este bloqueio impede a redução da quinona A, por esta competir com a quinona B pelo sítio de ligação da proteína D1, ocasionando na saída de QB e, conseqüentemente, interrupção no fluxo de elétrons. Não permitindo a redução do NADPH, essencial para a fixação de CO₂, elemento importante para o crescimento das plantas (Fuerst & Norman 1991; Breitenbach et al., 2001). O atrazine apresenta meia-vida no solo entre 15 e 100 dias, porém, devido ao seu largo uso em todo o mundo e à baixa capacidade adsortiva, é um dos herbicidas mais lixiviados e danosos ao meio ambiente (Ralebitso et al., 2002; Menezes et al., 2012).

Para aumentar o espectro de controle de plantas daninhas na cultura do milho, o herbicida atrazine é utilizado, pelos agricultores, junto com outros produtos

comerciais, como o nicosulfuron (Freitas & Timossi, 2011). O nicosulfuron é um herbicida sistêmico, pós-emergente, do grupo químico das sulfoniluréias, inibindo a enzima aceto-lactato-sintase (ALS) nas plantas, prejudicando a biossíntese de aminoácidos de cadeia ramificada: valina, leucina e isoleucina, e, conseqüentemente no crescimento celular (Anderson et al., 1998).

As substâncias químicas contidas nos herbicidas são capazes de interferir em outras rotas metabólicas não alvo, como naquelas presentes em inimigos naturais, alterando assim seu *fitness*. Os inimigos naturais são importantes agentes no controle biológico de pragas, pois podem alimentar-se de várias espécies de insetos pragas, reduzindo sua densidade no campo. O herbicida glyphosate é formulado com diferentes sais, tais como o sal potássico, sal de isopropilamina e sal de amônio. Apresentado diferentes efeitos de toxicidade, devido a sua formulação, sobre os insetos benéficos como o parasitoide *Trichogramma pretiosum* (Riley) (Hymenoptera: Trichogrammatidae), um importante agente de controle biológico capaz de parasitar ovos de uma grande diversidade de pragas da ordem Lepidoptera (Giolo et al., 2005).

Os herbicidas clorimuron 20 (Classic®) e glyphosate 972 (Roundup Ready®) foram classificados como nocivos para ovos de *T. pretiosum* e inofensivos para o estágio de larva e pupa deste parasitoide (Bueno et al., 2008). Ovos de *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae), inseto considerado inimigo natural de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), foram sensíveis aos herbicidas atrazine e nicosulfuron (Menezes et al., 2012).

Em geral, estudos que envolvem a classe dos agrotóxicos, para fins de registro e/ou compatibilidade com programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP)

proporcionam importantes informações sobre o risco que representam para os inimigos naturais (Desneux et al., 2007; Castro et al., 2011). O uso de inimigos naturais no MIP está associado como o uso de agrotóxicos que sejam, simultaneamente, eficientes contra pragas e seguros para artrópodes predadores e parasitoides (Desneux et al., 2004; 2007; Bueno et al., 2008). A ação dos agrotóxicos sobre os inimigos naturais podem resultar em uma série de eventos comportamentais e fisiológicos, causando perturbações entre o sistema nervoso e endócrino, podendo provocar limitações na sua taxa de oviposição (Desneux et al., 2007).

1.2. CONTROLE BIOLÓGICO NA CULTURA DO MILHO

O controle biológico de pragas inclui o uso de organismos benéficos como predadores e parasitoides, ou micro-organismos como fungos, vírus e bactérias, para controlar espécies de pragas. Esta estratégia do MIP atua como uma alternativa atóxica sem provocar desequilíbrio (Perdikis et al., 2011). Uma das estratégias do MIP é a conservação de comunidades de inimigos naturais no campo (Barbosa, 1999; Straub, 2008). Outra é a importação dos inimigos naturais contra pragas exóticas, ou seja, o controle biológico clássico. O controle biológico aplicado se dá por meio da aplicação inundativa ou inoculativa de inimigos naturais que já estão em pleno vigor e disponíveis (Straub, 2008; Perdikis et al., 2011). O Brasil tem um grande potencial para o uso do controle biológico, pois está em uma região tropical onde o número de agentes é expressivo (Torres et al., 2006).

A subfamília Asopinae apresenta um elevado número de percevejos predadores para o uso no controle biológico, tanto na agricultura como em culturas florestais

(Lemos et al., 2003; Zanuncio et al., 2008). Mais de 58 espécies de Asopinae já foram relatadas na América do Sul, sendo que deste total, 14 gêneros compreendendo 44 espécies, são encontradas no Brasil (Torres et al., 2006). Entre as espécies desta subfamília, o predador *Podisus nigrispinus* é o percevejo mais estudado no Brasil. De hábito generalista, alimenta-se principalmente de larvas de insetos de várias espécies de pragas pertencentes às ordens Lepidoptera e Coleoptera (Grosman et al., 2005; Torres et al., 2006).

Uma das características que favorece a utilização de *P. nigrispinus* como um importante predador de pragas agroflorestais, inclui a sua agressividade. Este percevejo ataca mais de 30 espécies de pragas de importância econômica e ocorre naturalmente em diversos agroecossistemas com registro na Argentina, Bolívia, Brasil, Colômbia, Costa Rica, Equador, Guiana, Panamá, Paraguai, Peru e Suriname (Zanuncio et al., 2003; Freitas et al., 2006; Torres et al., 2006).

Diferentes fatores podem afetar seu uso como agente do controle biológico, entre eles a existência de métodos de amostragem das pragas adequados, taxas de liberação, sua capacidade de reprodução e dinâmica populacional (Torres et al., 2006), ou seja, sua eficiência como agente de controle biológico está relacionada com fatores que garantam a sua permanência no campo (Zanuncio et al., 2003).

Dentre as pragas de potencial econômico, uma das mais importantes encontradas na cultura do milho é a lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda*, considerada uma das pragas mais destrutivas do milho nas Américas (Zanuncio et al., 2008). Tem ocorrência em todas as regiões produtoras de milho no Brasil e pode atacar as plantações em qualquer época do ano, desde a sua emergência até a formação

de espigas, tanto nos cultivos de verão quanto na safrinha (Figueiredo et al., 2006; Zanuncio et al., 2008).

Medidas alternativas como o uso combinado de variedades de milho resistentes com o controle biológico, visam o atraso da adaptação destas pragas (Hoballah, 2004). Estimular o controle biológico é indispensável para o estabelecimento de programas de MIP. Para a liberação desses predadores é necessário conhecer sua biologia e a interferência que estes inimigos naturais podem sofrer devido às condições de campo.

1.3. **REPRODUÇÃO DE *Podisus nigrispinus***

O sucesso reprodutivo de *Podisus* sp. está fortemente relacionado com o período de acasalamento desta espécie (Sousa-Souto et al., 2006). A realização de longas cópulas é necessária para a transferência de material seminal em quantidade apropriada às fêmeas, o que garante a postura de ovos com uma taxa de viabilidade elevada (Rodrigues et al., 2008; Soares et al., 2011). Outras duas vantagens são pontuadas para justificar o longo período de cópulas, as fêmeas podem responder aos machos de forma imediata para promover o uso de esperma durante ou logo após o acasalamento e ainda é possível relacionar este comportamento com o de “guarda” das fêmeas pelos machos para evitar futuras cópulas. Além disso, os machos precisam assegurar que seus gametas sejam transferidos para a fêmea e que migrem para o local de armazenamento (Eberhard, 1994; Rodrigues et al., 2008). O número de espermatozoides transferidos durante o acasalamento depende da duração da cópula (Chapman et al., 2000; Edvardsson & Arnqvist, 2000), o que justifica a duração do

acasalamento do predador *P. nigrispinus* ser em média de 15 horas (Torres & Zanuncio, 2001).

Em muitas espécies de insetos, as fêmeas podem esgotar o esperma armazenado logo após o acasalamento (Soares et al., 2011), o que torna a fêmea receptiva às múltiplas cópulas. O acasalamento múltiplo pode ocorrer com o mesmo ou com diferentes machos. Este comportamento de se acasalar com diferentes machos, caracteriza as fêmeas como poliândricas, uma estratégia utilizada para garantir a reposição de esperma e assegurar a fertilização de todos os seus ovos (Sousa-Souto, 2006). Os acasalamentos múltiplos podem ainda, reduzir ou evitar a incompatibilidade genética, depleção dos espermatozoides e incrementar a sobrevivência da prole (Jennions & Petrie, 2000; Kaitala & Katvala, 2001; Fedorka & Mousseau, 2004). Porém, esses benefícios exigem que espermatozoides de diferentes machos se misturem no trato reprodutivo da fêmea para competição direta pós-cópula (Uhl et al., 2005).

Durante a cópula, ocorre a transferência de substâncias acessórias, além de espermatozoides, que são utilizados pelas fêmeas para a vitelogênese, oviposição, ativação e viabilidade de espermatozoides durante a armazenagem na espermateca (Herndon & Wolfner, 1995; Koshiyama et al., 1996). A transferência de peptídeos e proteínas com a ejaculação pode alterar a produção de feromônio sexual na fêmea, deixando-a não receptiva a um novo acasalamento (Rodrigues et al., 2008).

Em geral, o aparelho reprodutor das fêmeas consiste de um par de ovários, composto geralmente por sete ovariolos, dois ovidutos laterais, um oviduto comum, glândulas acessórias e vagina. Os ovários são suspensos na cavidade do corpo por

filamentos terminais e na extremidade inferior pelos ovidutos laterais. Os filamentos terminais estão interligados aos ovaríolos, formando um grupo de estrutura compacta. Os ovaríolos são longos tubos rodeados por uma rede traqueal bem desenvolvida. Os ovaríolos de cada ovário se fundem formando os ovidutos laterais, com um diâmetro maior que o dos ovaríolos. Os ovidutos laterais se combinam, formando o oviduto comum com um diâmetro similar (Lemos et al., 2005; 2010; Soares et al., 2011).

Os ovários dos insetos são diferenciados morfo-funcionalmente em duas categorias: panoístico e meroístico. Essa classificação baseia-se no destino das células germinativas no decorrer do desenvolvimento (Bonhag, 1958; Büning, 2006). Nos ovaríolos panoísticos, todas as células germinativas podem tornar-se ovócitos, enquanto nos meroísticos as divisões dos citoblastos levam à formação de agrupamentos (“clusters”) de células-irmãs (cistócitos). Os cistócitos sofrem diferenciação dando origem aos trofócitos e oócitos (Büning, 1994; Simiczyjew, 2003). Os ovários meroísticos podem ser classificados em: politrófico, caracterizado pela formação alternada de trofócitos e oócitos ao longo do ovaríolo; e o telotrófico, no qual as células tróficas são mantidas numa câmara terminal, comunicando-se com os oócitos através de cordões tróficos (Büning, 1994; Lemos et al., 2005).

Os hemípteros apresentam a estrutura do aparelho reprodutor da fêmea bastante homogêneo, com um ovaríolo meroístico telotrófico (Büning, 1994; Lundgren, 2011), onde todas as células nutridoras em potencial (trofócitos) são mantidas no germário, o qual se transforma em câmara terminal (câmara trófica) (Büning, 1994; Simiczyjew, 2003; Lemos et al., 2005).

O ovaríolo é a unidade funcional do ovário, organizados morfo-funcionalmente em três regiões distintas: i) o filamento terminal, localizado na extremidade anterior do ovaríolo, sustentando o ovário na cavidade abdominal, ii) o germário ou trofário, região apical do ovaríolo logo abaixo do filamento terminal, abrigam as células que dão origem aos trofócitos, oócitos e células foliculares, e iii) o vitelário, região posterior ao trofário, na qual o oócito passa pelo processo de vitelogênese e coriogênese (Büning, 1994; Lemos et al., 2005).

O desenvolvimento do ovo é iniciado por uma série de eventos e está intimamente ligado à ecologia e comportamento do inseto (Lundgren, 2011). Há três estádios gerais para o desenvolvimento dos ovos nos predadores da subordem Heteroptera, primeiro o ovócito imaturo acumula nutrientes, formando os ovócitos pré-vitelogênicos. Em seguida, o ovócito acumula uma proteína específica, vitelina, formando os ovócitos vitelogênicos. Finalmente, o óvulo maduro é formado e inicia-se o desenvolvimento do córion, onde a casca de ovo é formada (Adams, 2000; Lemos et al., 2005). É no vitelário basal, parte da estrutura do ovaríolo, que se desenvolvem os ovócitos. A quantidade de ovócitos encontrado em cada ovaríolo está fortemente relacionada com a fertilidade da fêmea. O número de ovócitos maduros presentes nos ovários prediz a rapidez com que a fêmea pode responder reprodutivamente (Vandekerckhove, 2006; Lundgren, 2011).

As fêmeas de *P. nigrispinus* podem iniciar a produção e maturação dos seus ovos logo após sua emergência, porém o acasalamento estimula a continuidade do processo de oviposição do predador. Ou seja, as fêmeas acasaladas têm a oviposição

estimulada e reduzem o período de pré-oviposição (Sousa-Souto et al., 2006; Rodrigues et al., 2008; Soares et al., 2011).

Vários fatores como temperatura (Medeiros, 2003), tipos de presas e plantas hospedeiras (Evangelista JR., 2003; Legaspi & Legaspi, 2004; Lemos et al., 2010), idade, peso e tamanho da fêmea, frequência e tempo da cópula (Rodrigues et al., 2008; Soares et al., 2011; Lemos et al., 2010) e uso de agrotóxicos (Torres & Ruberson, 2004; Menezes et al., 2012; Oliveira et al., 2012) interferem na reprodução de *Podisus* sp., comprometendo a sua permanência no campo. Estes fatores alteram o *fitness* da fêmea, provocando alterações na sua fisiologia e morfologia de seus ovos e no aparelho reprodutor.

Podisus nigrispinus está entre as espécies de percevejo mais estudadas, porém são poucas as informações quanto a possíveis modificações no seu comportamento reprodutivo aliadas aos impactos ecotoxicológicos causados por agrotóxicos como os herbicidas. Estudos afirmam que os herbicidas comprometem o controle biológico realizado pelos seus agentes (Camilo et al., 2012; Menezes et al., 2012). Assim, a geração de conhecimento sobre a influência destes insumos no *fitness* do *P. nigrispinus* é de fundamental importância para o programa de MIP na cultura do milho. Com isto, será possível melhorar as metodologias para a introdução desses predadores, oferecendo melhor desempenho e conservando a sua permanência no campo.

O objetivo deste trabalho foi verificar o efeito dos herbicidas atrazine, nicosulfuron e mistura destes aplicados na cultura do milho, sobre: i) o comportamento

de cópula, ii) a dinâmica reprodutiva das fêmeas, e iii) a morfologia e a histologia das estruturas reprodutivas das fêmeas.

A introdução geral e os artigos desta dissertação foram redigidos baseados nas normas da ABNT e do periódico Chemosphere.

2. REFERÊNCIAS

Adams, T.S., 2000. Effect of diet and mating status on ovarian development in a predaceous stink bug *Perillus bioculatus* (Hemiptera: Pentatomidae). Annals of the Entomological Society of America 9,529–535.

Anderson D.D., Nissen, S.J., Martin, A.R., 1998. Mechanism of primisulfuron resistance in a shattercane (*Sorghum bicolor*) biotype. Weed Science 46, 158-162.

Barbosa, P., 1999. Agroecosystems and conservation biological control. Conservation Biological Control. Academic Press 3, 39-54.

Bonhag, P.F. Ovarian structure and vitellogenesis in insects. Annual Review of Entomology 3,137-160.

Breitenbach, J., Vioque, A., Sandmann, G., 2001. Gene sl10033 from *Synechocystis* 6803 encodes a carotene isomerase involved in the biosynthesis of *all*-E lycopene. A Journal of Biosciences - Zeitschrift für Naturforschung C 56, 915–917.

Bueno, A.F., Bueno, R.C.O.F., Parra, J.R.P., Silva, S.V., 2008. Effects of pesticides used in soybean crops to the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum*. Ciência Rural 38,1495-1503.

Büning, J., 1994. Germ cell formation in insect ovaries. Journal of Insect Morphology & Embryology 22, 237-253.

- Büning, J., 2006. Ovariole structure supports sistergroup relationship of Neuropterida and Coleoptera. *Arthropods Systematics & Phylogeny* 64, 115-126.
- Camilo, S.S., Soares, M.A., Santos, J.B., Assis-Júnior, S.L., Ferreira, E.A., Menezes, C.W.G., 2012. Impactos toxicológicos de herbicidas recomendados para a cultura do milho em ninfas do predador *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae). *Revista Brasileira de Herbicidas* 11, 339-346.
- Capinera, J.L., 2005. Relationships between insect pests and weeds: An evolutionary perspective. *Weed Science* 53, 892-901.
- Castro, A. A., Lacerda, M.C, Zanuncio, T.V., Ramalho, F.S., Polanczyk, R.A., Serrão, J.E., Zanuncio, J.C., 2012. Effect of the insect growth regulator diflubenzuron on the predator *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). *Ecotoxicology* 21, 96–103
- Chapman, T., Neubaum, D.M., Wolfner, M.F, Partridge, L., 2000. The role of male accessory gland protein Acp36DE in sperm competition in *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the Royal Entomological Society of London B* 267, 1097-1105.
- Di Paolo, E., Rinaldi, M., 2008. Yield response of corn to irrigation and nitrogen fertilization in a Mediterranean environment. *Field Crops Research* 105, 202–210.
- Eberhard, W.G., 1994. Evidence for widespread courtship during copulation in 131 species of insects and spiders, and implications for cryptic female choice. *Evolution* 48,711–733.
- Edgerton, M.D., 2009. Increasing crop productivity to meet global needs for feed, food, and fuel. *Plant Physiology* 149, 7–13.
- Edvardsson, M., Arnqvist, G., 2000. Copulatory courtship and cryptic female choice in red flour beetles. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B* 267, 559-563.

- Evangelista-Júnior., W.S., Gondim JR., M.G.C., Torres, J.B., Marques, E.J., 2003. Efeito de plantas daninhas e do algodoeiro no desenvolvimento, reprodução e preferência para oviposição de *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae). *Neotropical Entomology* 32, 677-684.
- Farkas, T.E., Singer, M.S., 2013. Can caterpillar density or host-plant quality explain host-plant-related parasitism of a generalist forest caterpillar assemblage? *Oecologia* 173, 971–983.
- Fedorka, K.M., Mousseau, T.A., 2004. Female mating bias results in conflicting sex-specific offspring fitness. *Nature* 429, 65-67.
- Figueiredo, M.L.C., Martins-Dias, A.M.P., Cruz, I., 2006. Relação entre a lagarta do cartucho e seus agentes de controle biológico natural na produção de milho. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 41, 1693-1698.
- Freitas, S.P.C., Evangelista JR., W.S., Zanuncio, J.C., Serrão, J.E., 2006. Development, survival and reproduction of *Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851) (Heteroptera: Pentatomidae) with salt and amino acids solution supplementary diet. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 49, 449-455.
- Fuerst, E.P., Norman, M. A. 1991. Interactions of herbicides with photosynthetic electron transport. *Weed Science* 39, 458-464.
- Timoss, P.C., Freitas, T.T., 2011. Eficácia de nicosulfuron isolado e associado com atrazine no manejo de plantas daninhas em milho. *Revista Brasileira de Herbicidas* 10, 210-218.

Guedes, R.N.C., Lima, J.O.G., Zanuncio, J.C., 1992. Seletividade dos inseticidas deltametria, fenvalerato e fenitrotion para *Podisus connexivus* Bergroth, 1891 (Heteroptera: Pentatomidae). Anais da Sociedade Entomológica do Brasil 21, 339-346.

Giolo, F.P., Grützmacher, A.D., Procópio, S.O., Manzoni, C.G., Lima, C.A.B., Nornberg, S.D., 2005. Seletividade de formulações de glyphosate a *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Planta Daninha 23, 457-462.

Gholamhoseini, M., Aghaalikhani, M., Sanavya, S.A.M.M., Mirlatifibi, S.M, 20013. Interactions of irrigation, weed and nitrogen on corn yield, nitrogen use efficiency and nitrate leaching. Agricultural Water Management 126, 9–18.

Grosman, A.H., Breemen, M.V., Holtz, A.M., Pallini, A., Molina-Rugama, A.J., Pengel, H., Venzon, M., Zanuncio, J.C., Sabelis, M.W., Janssen, A., 2005. Searching behaviour of an omnivorous predator for novel and native host plants of its herbivores: a study on arthropod colonization of eucalyptus in Brazil. Entomologia Experimentalis et Applicata 116, 135-142.

Koshiyama, Y., Tsumuki, H., Fujisaki, K., Nakasuji, F., 1996. Nutritional contribution to females of ¹⁴C-labeled male secretions transferred during mating in *Menida scotti* (Heteroptera: Pentatomidae). Researches on Population Ecology 38, 51-56.

Krutz, L.J., Zablotowicz, R.M., Reddy, K.N., 2012. Selection pressure, cropping system, and rhizosphere proximity affect atrazine degrader populations and activity in s-triazine–adapted soil. Weed Science Society of America 60, 516–524.

Hamilton, W.D. 1964. Genetical evolution of social behaviour II. Journal of Theoretical Biology 7, 17-52.

- Herndon, L.A., Wolfner, M.F., 1995. A *Drosophila* seminal fluid protein, Acp26Aa, stimulates egg laying in females for 1 day after mating. *Proceedings of national Academy of Sciences* 92, 10114-10118.
- Hoballah, M.E., Degen, T., Bergvinson, D., Savidan, A., Tamò, C., Turlings T.C.J., 2004. Occurrence and direct control potential of parasitoids and predators of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) on maize in the subtropical low lands of Mexico. *Agricultural and Forest Entomology* 6,83-88.
- Hough-Goldstein, J.A., Vangessel, M.J., Wilson, A.P., 2004. Manipulation of weed communities to enhance ground-dwelling arthropod populations in herbicide-resistant field corn. *Environmental Entomology* 33, 577-586.
- Jennions, M.D., Petrie, M., 2000. Why do females mate multiply? A review of the genetic benefits. *Biology Reviews* 75, 21–64.
- Kaitala, A., Katvala, M., 2001. Sexual interactions and conspecific exploitation in an egg-carrying bug. *Annales Zoologici Fennici* 38, 215–221.
- Landis, D.A., Gardiner, M.M., Van Der, W.W., Swinton, S.M., 2008. Increasing corn for biofuel production reduces biocontrol services in agricultural landscapes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105, 20552–20557.
- Legaspi, J.C., Legaspi JR., B.C., 2004. Does a polyphagous predator prefer prey species that confer reproductive advantage? Case study of *Podisus maculiventris*. *Environmental Entomology*, 33, 1401-1409.
- Lemos, W.P., Ramalho, F.S., Serrão, J.E., Zanuncio, J.C., 2003. Effects of diet on development of *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae), a predator of cotton leafworm. *Journal of Applied Entomology* 127, 389-395.

- Lemos, W.P., Ramalho, F.S., Serrão, J.E., Zanuncio, J.C., 2005. Morphology of female reproductive tract of the predator *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) fed on different diets. Brazilian Archives of Biology and Technology 48, 129-138.
- Lemos, W.P., Zanuncio, J.C., Ramalho, F.S., Zanuncio, T.V., Serrão, J.E., 2010. Herbivory affects ovarian development in the zoophytophagous predator *Brontocoris tabidus* (Heteroptera: Pentatomidae). Journal of Pest Science 83, 69–76.
- Leite, G.L.D., Evaristo, A.B., Soares, M.A., Melo, M.A.V., Souza, S.A., 2011. Resistência de oito populações de milho a insetos. Revista de Ciência da Vida 31, 88-93.
- Li, X., Hu, C., Delgado, J.A., Zhang, Y., Ouyand, Z., 2007. Increase nitrogen use efficiency as a key mitigation alternative to reduce nitrate leaching in north china plain. Agriculture Water Management 89, 137–147.
- Lundgren, J.G., 2011. Reproductive ecology of predaceous Heteroptera. Biological Control 59, 37–52.
- Marshall, E.J.P., Brown, V.K., Boatman, N.D., Lutman, P.J.W., Squire, G.R., Ward, L.K., 2003. The role of weeds in supporting biological diversity within crop fields. Weed Research 43, 77-89.
- Medeiros, R.S., Ramalho, F.S., Serrão, J.E., Zanuncio, J.C., 2003. Temperature influence on the reproduction of the noctuid larva *Alabama argillacea*. BioControl 48, 695-704.

- Menezes, C.W.G., Santos, J.B., Assis-Júnior., S.L., Fonseca, A.J., França, A.C., Soares, M.A., Fernandes, A.F., 2012. Seletividade de atrazine e nicosulfuron a *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). *Planta Daninha* 30, 327-334.
- Menezes, C.W.G, Soares, M.A, Santos, J.B., Assis-Júnior, S.L, Fonseca, A.J, Zanuncio, J.C., 2012. Reproductive and toxicological impacts of herbicides used in *Eucalyptus* culture in Brazil on the parasitoid *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae). *Weed Research* 52, 520-525.
- Moraes, M.C.B., Laumann, R.A., Pires, C.S.S., Sujii, E.R., Borges, M., 2005. Induced volatiles in soybean and pigeon pea plants artificially infested with the Neotropical Brown stink bug, *Euschistus heros*, and their effect on the egg parasitoid, *Telenomus podisi*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 131, 178-188.
- Norris, R.F., Kogan, M., 2000. Interactions between weeds, arthropod pests, and their natural enemies in managed ecosystems. *Weed Science* 48, 94-158.
- Ode, P.J., 2006. Plant chemistry and natural enemy fitness: effects on herbivore and natural enemy interactions. *Annual Review of Entomology* 51, 163–85.
- Oliveira, S.O.D., Barbosa, W. F., Malqui, K. S. V., Guedes, R.N.C., 2012. Mating behavior of the predator *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) under exposure to neem. *Chilean Journal of Agricultural Research* 72, 523-527.
- Pandy, R.K., Maranville, J.W., Admou, A., 2000. Deficit irrigation and nitrogen effects on maize in a Sahelian environment I. Grain yield and yield components. *Agricultural water management* 46, 1-13.
- Perdikis, D., Fantinou, A., Lykouressis, D., 2011. Enhancing pest control in annual crops by conservation of predatory Heteroptera. *Biological Control* 59, 13–21

Ralebitso, T.K., Senior, E., Van Verseveldh, W., 2002. Microbial aspects of atrazine degradation in natural environments. *Biodegradation* 13, 11-19.

Rodrigues, A.R.S., Serrão, J.E., Teixeira, W.W., Torres, J.B., Teixeira, A.A., 2008. Spermatogenesis, changes in reproductive structures, and time constraint associated with insemination in *Podisus nigrispinus*. *Journal of Insect Physiology* 54, 1543-1551.

Simiczjew, B., 2003. Germ cell cluster differentiation in polytrophic ovarioles of hanging-flies (Mecoptera: Bittacidae). *Zoologica Poloniae* 48, 71-79.

Straub, C.S., Finke, D.L., Snyder, W.E., 2008. Are the conservation of natural enemy biodiversity and biological control compatible goals? *Biological Control* 45, 225-237.

Soares, M.A., Zanuncio, J.C., Leite, G.L.D., Wermelinger, E.D., Serrão, J.E., 2009. Does *Thyriniteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae) use different defense behaviours against predators? *Journal of Plant Diseases and Protection* 116, 30-33.

Soares, M.A., Batista, J.D., Zanuncio, J.C., Lino-Neto, J., Serrão, J.E., 2011. Ovary development, egg production and oviposition for mated and virgin females of the predator *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). *Acta Scientiarum. Agronomy* 33, 597-602.

Soltani, N., Vyn, R.J., Vaneerd, L.L., Shropshire, C., Sikkema, P.H., 2009. Effect of reduced herbicide rates on weed control, environmental impact and profitability of corn. *Canadian Journal of Plant Science* 89, 969-975.

Sousa-Souto, L., Evangelista JR., W.S., Lima, E.R., Zanuncio, J.C., Fonseca, M.G., 2006. Sperm depletion: a cost for single mated females of *Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851) (Heteroptera: Pentatomidae). *Brazilian Archives of Biology and Technology* 49, 923-926.

- Torres, J.B., Zanuncio, J.C., 2001. Effects of sequential mating by males on reproductive output of the stinkbug predator, *Podisus nigrispinus*. *BioControl* 46, 469-480.
- Torres, J.B., Ruberson, J.R., 2004. Toxicity of thiamethoxam and imidacloprid to *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) nymphs associated to aphid and whitefly control in cotton. *Neotropical Entomology* 33, 99-106.
- Torres, J.B., Zanuncio, J.C., Moura, M.A., 2006. The predatory stinkbug *Podisus nigrispinus*: biology, ecology and augmentative releases for lepidoperan larval control in *Eucalyptus* in Brazil. *Biocontrol News and Information* 27, 1-18.
- Uhl, G., Schmitt, S., Schäfer, M.A., 2005. Fitness benefits of multiple mating versus female mate choice in the cellar spider (*Pholcus phalangioides*). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 34, 127-132.
- Vandekerkhove, B., Van Baal, E., Bolckmans, K., De Clercq, P., 2006. Effect of diet and mating status on ovarian development and oviposition in the polyphagous predator *Macrolophus caliginosus* (Heteroptera: Miridae). *Biological Control* 39, 532–538.
- Zanuncio, T.V., Serrão, J.E., Zanuncio, J.C., Guedes, R.N.C., 2003. Permethrin-induced hormesis on the predator *Supputius cincticeps* (Stål, 1860) (Heteroptera: Pentatomidae). *Crop Protection* 22, 941-947.
- Zanuncio, J.C., Silva, C.A.D., Lima, E.R.L., Pereira, F.F., Ramalho, F.S., Serrão J.E., 2008. Predation rate of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae with and without defense by *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). *Brazilian Archives of Biology and Technology* 51,121-125.

CAPÍTULO I

EFEITO DE ATRAZINE E NICOSSULFURON NO COMPORTAMENTO DE CÓPULA E NA CAPACIDADE REPRODUTIVA DAS FÊMEAS DE *Podisus* *nigrispinus* (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE)

RESUMO

São crescentes os estudos apontando os efeitos colaterais dos agrotóxicos, que tendem a diminuir a permanência dos inimigos naturais no campo, interferindo inclusive em sua capacidade de controlar pragas. O objetivo deste trabalho foi avaliar em doses comerciais, os efeitos ecotoxicológicos causados pelos herbicidas utilizados na cultura do milho, atrazine e nicosulfuron, sobre as características comportamentais e a capacidade reprodutiva das fêmeas de *P. nigrispinus*. Aos quatro dias de idade, quinze fêmeas de *P. nigrispinus*, por tratamento, receberam a dose de 1,5 g L⁻¹ atrazine; 0,3 g L⁻¹ nicosulfuron; 1,5g L⁻¹ + 0,3 g L⁻¹, atrazine + nicosulfuron. Após seis horas de exposição, as fêmeas foram transferidas para placas de Petri (10 cm), com um macho de *P. nigrispinus* para cada fêmea. Foi observado por 24 horas, o comportamento e a duração de cópula de cada casal deste predador. Foram avaliados os parâmetros biológicos de doze fêmeas deste predador: longevidade das fêmeas, período de pré-oviposição, período de oviposição, período de pós-oviposição, número de ovos por tratamento, fecundidade (número total de ovos viáveis). A duração dos acasalamentos, nas primeiras 24 horas, e a longevidade não foram influenciadas pela ação dos herbicidas, porém o número de ovos produzidos foi diminuído. Este resultado mostra

que as fêmeas de *P.nigrispinus* são capazes de se adaptar aos impactos ecotoxicológicos causados pelo atrazine e nicosulfuron.

Palavras-chave: Inimigos naturais, Comportamento de cópula, Parâmetros reprodutivos, Longevidade, Herbicidas.

EFFECT OF ATRAZINE AND NICOSSULFURON ON BEHAVIOR
COPULATION AND REPRODUCTIVE CAPACITY OF FEMALE *Podisus*
***nigrispinus* (Stal) (Hemiptera : Pentatomidae)**

ABSTRACT

There are growing studies on the side effects of pesticides, which tend to decrease the permanence of natural enemies in the field, including interfering in their ability to control pests. The objective of this study was to evaluate in commercial doses, the ecotoxicological effects caused by herbicides used in corn, atrazine and nicosulfuron on the behavioral characteristics and reproductive capacity of females to the predator . At four days of age, fifteen adult females of *P. nigrispinus* by treatment received a dose of 1.5 g L⁻¹ atrazine , 0.3 g L⁻¹ nicosulfuron , 1.5 g L⁻¹ + 0.3 g L⁻¹ atrazine + nicosulfuron . After six hours of exposure, the females were transferred to Petri dishes (10 cm), with a male of the predator for each female. Was observed for 24 hours and the duration of copulation behavior of each couple this predator. Biological parameters of twelve females of this predator were evaluated: female longevity, pre-oviposition, oviposition period, post-oviposition period, number of eggs per treatment, fertility (total number of viable eggs). The duration of mating, the first 24 hours, and longevity were not affected by the herbicides, but the number of eggs produced was decreased. This result shows that female *P.nigrispinus* is able to adapt to ecotoxicological impacts caused by atrazine and nicosulfuron.

Keywords: Natural enemies , mating behavior , reproductive parameters , Longevity ,
Herbicides.

1. INTRODUÇÃO

O uso dos herbicidas, produtos químicos sintetizados para o controle das plantas daninhas, pode influenciar a abundância e composição de artrópodes predadores nos agroecossistemas, provocando impactos comportamentais e fisiológicos (Hough-Goldstein, 2004; Desneux et al., 2007; Camilo et al., 2012; Menezes et al., 2012). Algumas espécies de plantas consideradas daninhas, devido a sua densidade, estrutura de sua vegetação, uso como abrigo e fonte de energia, têm grande importância ecológica, principalmente, para as espécies de insetos benéficos (Norris & Kogan, 2004; Msebah & El-Husseini, 2009),

Os artrópodes benéficos podem estar expostos aos herbicidas por meio do contato direto com a gota de pulverização, ou pela ingestão de presas e seiva de plantas contaminadas. Porém, o contato tarsal é a principal via de exposição destes inimigos naturais (Marshall et al., 2003; Mahdian et al., 2007; Cloyd & Bethke, 2011).

O uso de herbicidas seletivos tem como vantagem para Programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP) a capacidade de controlar plantas daninhas com mínimos efeitos sobre organismos não alvos (Bueno & Freitas, 2004), sem causar a interrupção dos serviços que esses prestam ao ecossistema.

Spodoptera frugiperda (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), praga chave do milho, pode causar danos à cultura durante todo seu ciclo. Essa praga pode ser controlada pelo percevejo predador *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae), considerado um potencial inimigo natural para diversas pragas pertencentes às ordens Lepidoptera e Coleoptera (Grosman et al., 2005; Torres et al., 2006;).

São crescentes os estudos apontando os efeitos colaterais nos insetos provocados por agrotóxicos, que tendem a diminuir a permanência dos inimigos naturais no campo, interferindo inclusive em sua capacidade de controlar pragas (Bueno & Freitas, 2008; Bueno et al., 2008; Carmo et al., 2010; Menezes et al., 2012). A permanência destes predadores no campo está diretamente relacionada com o *fitness* das fêmeas (Lundgren et al., 2011).

Reduções na fecundidade causadas pelos herbicidas podem ser devido a efeitos comportamentais (Msebah & El-Husseini, 2009). O sucesso reprodutivo de *P. nigrispinus* está diretamente relacionado com o seu comportamento de cópula. Longas cópulas garantem a transferência do material seminal e de substâncias acessórias, promovendo uma maior massa de ovos, com uma elevada taxa de viabilidade (Rodrigues et al., 2008; Soares et al., 2011). Além disso, a capacidade que uma espécie possui para a reprodução é dirigida pela fisiologia e morfologia das fêmeas e de seus ovos (Lundgren, 2011; Sá et al., 2013).

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar, em doses comerciais, os efeitos ecotoxicológicos causados pelos herbicidas utilizados na cultura do milho, nas características comportamentais e sobre a capacidade reprodutiva das fêmeas de *P. nigrispinus*.

2. MATERIAS E MÉTODOS

2.1. OBTENÇÃO DAS FÊMEAS DE *P. nigrispinus*

Ovos de *P. nigrispinus* foram oriundos da criação do Laboratório de Controle Biológico de Insetos da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri –

UFVJM, onde este predador é criado a $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de umidade relativa e fotofase de 12 horas. Duzentos ovos com menos de 24 horas foram coletados e dispostos em potes plásticos de 500 mL com um chumaço de algodão umedecido com água (Menezes et al., 2012), prevenindo-os de um possível ressecamento. Ao atingirem o 3º estágio as ninfas de *P. nigrispinus* foram separadas em grupo de cinco para evitar o canibalismo. Durante todo o experimento, ninfas e adultos foram alimentados com pupas de *Tenebrio molitor* (Linnaeus) (Coleoptera: Tenebrionidae) *ad libitum* (Torres et al., 2006) reproduzidas no Laboratório de Controle Biológico de Insetos da UFVJM. Após a emergência, os adultos de *P. nigrispinus* foram sexados pela aparência externa da genitália (Lemos et al., 2005). Na morte dos machos durante os bioensaios, os mesmos foram substituídos por outros machos de mesma idade.

2.2. COMPOSIÇÃO DOS TRATAMENTOS

Os tratamentos foram dispostos em delineamento inteiramente casualizado com doze repetições, compostos pelo controle (água destilada) e pelos herbicidas atrazine (Primóleo® 400g i.a/L), nicosulfuron (Sanson® 40g i.a/L) e em mistura (atrazine (Primóleo® 400g i.a/L) + nicosulfuron (Sanson® 40g i.a/L)). A dose dos herbicidas foi calculada de acordo com o diâmetro médio do pote plástico de 500 mL.

2.4. APLICAÇÃO DOS TRATAMENTOS

Aos quatro dias de idade como adulta, quinze fêmeas de *P. nigrispinus*, por tratamento, foram individualizadas em potes plásticos de 500 mL, forrados com folhas de milho para evitar o contato da fêmea com excesso do produto. Para a aplicação

utilizou-se uma seringa de 1 mL, com agulha adaptada para pulverização, aspergindo-se 0,26 mL de água destilada; 1,5 gL⁻¹ de atrazine; 0,3 gL⁻¹ de nicosulfuron e 1,5gL⁻¹ + 0,3 gL⁻¹ da mistura, atrazine + nicosulfuron, correspondentes à recomendação de 6 e 1,5 Lha⁻¹ dos produtos comerciais Primóleo® 400g i.a/L e Sanson® 40g i.a./L, respectivamente. A aplicação foi feita diretamente sobre as fêmeas (Menezes et al., 2012). Após seis horas, tempo necessário para a penetração do herbicida nas folhas do milho, as fêmeas foram transferidas para placas de Petri (10 cm), com um macho de *P. nigrispinus* para cada fêmea.

2.5. BIOENSAIO I - COMPORTAMENTO DE CÓPULA

Após a aplicação dos tratamentos, foi mantido um casal por placa de Petri, em delineamento inteiramente casualizado e com quinze repetições. Foi observada por 24 horas, a atividade de locomoção, o comportamento e a duração de cópula de cada casal deste predador e a sobrevivência das fêmeas (Carvalho et al., 1994, Rodrigues et al., 2009). Após este período foi observado possíveis alterações na predisposição das fêmeas à cópula. Os dados foram submetidos aos testes das pressuposições do modelo matemático, Kolmogorov-Smirnov e Bartlett, em seguida à análise de variância, comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, com o software R.

2.6. BIOENSAIO II - REPRODUÇÃO DE *Podisus nigrispinus*

Doze casais utilizados no ensaio de comportamento de cópula foram mantidos para a realização da reprodução. Neste experimento, foram observados os seguintes parâmetros biológicos: longevidade das fêmeas, período de pré-oviposição, período de

oviposição, período de pós-oviposição, número de ovos por tratamento, fecundidade (número total de ovos viáveis). Os dados foram submetidos aos testes das pressuposições do modelo matemático, Kolmogorov-Smirnov e Bartlett, em seguida à análise de variância, comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, com o software R.

3. RESULTADOS

3.1. COMPORTAMENTO DE CÓPULA

Imediatamente após o início da formação dos casais, as fêmeas do tratamento controle e as expostas ao herbicida atrazine, iniciaram o comportamento de cópula. As expostas ao nicosulfuron iniciaram a cópula, após várias tentativas, uma hora depois da formação dos casais. Apenas duas fêmeas expostas à mistura dos herbicidas apresentaram predisposição ao acasalamento, após o tempo médio de 11 horas. Além disso, fêmeas desse tratamento (mistura) se locomoveram menos nas placas de Petri durante o tempo de observação, quando comparadas aos demais. Porém a duração do tempo de cópula foi semelhante, independente do tratamento, variando de 10 a 15 horas (tabela 1). Para os tratamentos com os herbicidas isolados o efeito na predisposição das fêmeas à cópula foi semelhante. Após as primeiras 24 horas, as fêmeas tratadas com a mistura tornaram-se mais predispostas à cópula. Não houve efeito na duração de cópula sobre a longevidade das fêmeas, independente dos tratamentos, a longevidade das fêmeas foi semelhante (tabela 1).

3.2. CARACTERÍSTICAS REPRODUTIVAS

Em todos os tratamentos, o período fértil foi o de maior duração na fase adulta das fêmeas (Fig.1). O período de pré-oviposição foi semelhante para os tratamentos, exceto para as fêmeas tratadas com o nicosulfuron (Tabela 2). Para o período de oviposição e pós-oviposição, os resultados foram semelhantes para todos os tratamentos (Tabela 2). Os números de ovos produzidos pelas fêmeas expostas aos herbicidas diferem do número de ovos produzidos pelas fêmeas do controle (tabela 1). Porém a taxa de viabilidade destes foi semelhante para todos os tratamentos (tabela 1).

3. DISCUSSÃO

A duração dos acasalamentos, nas primeiras 24 horas, não foi influenciada pela ação dos herbicidas. Isto mostra que não houve interferência no tempo de ganho em material genético e em material nutricional. Estudos que avaliaram o período de cópula de *P. nigrispinus*, mostraram em média duração em torno de 12 horas, sendo que este tempo está relacionado diretamente com a quantidade de material transferido (Carvalho et al. 1995), pois o macho precisa assegurar que seus gametas sejam transferidos para a fêmea e que esses migrem para a espermateca (Chapman et al. 2000; Rodrigues et al., 2009). Efeitos subletais de agrotóxicos desencadeiam respostas distintas em fêmeas de *P. nigrispinus*, a azadiractina afetou a duração do período de acasalamento, sendo necessária uma duração maior para a transferência de materiais do que para as fêmeas não expostas (Oliveira et al., 2012).

Os efeitos dos herbicidas, no comportamento de cópula, foram mais evidentes nas primeiras 24 horas para o tratamento com a mistura dos herbicidas, onde somente

duas fêmeas apresentaram-se disponíveis à cópula. A partir do quarto dia de idade, fêmeas de *P. nigripinus* encontram-se em estágio de maturação sexual, tornando receptivas as cópulas (Zanuncio et al., 1992; Carvalho et al., 1994; Rodrigues et al., 2008). As fêmeas pulverizadas com a mistura dos herbicidas, além da indisponibilidade a cópula, nas primeiras 24h, reduziram suas atividades de locomoção. Os agrotóxicos podem afetar a comunicação química entre os artrópodes, reduzindo seu instinto predador e a sua capacidade de localizar seus parceiros. O hormônio juvenil afeta o metabolismo geral na maioria dos insetos, causando alterações na histogênese, nos tipos de polimorfismo e no comportamento sexual (Wigglesworth, 1965; Griesinger et al., 2011; He et al., 2012). Esse efeito pode ter como causa um comportamento adaptativo, no qual estas fêmeas apresentam menor mobilidade para evitar a maior exposição aos resíduos tóxicos (Campos et al., 2011). No entanto, as perturbações de mobilidade podem também aumentar a vulnerabilidade do inimigo natural à predação no campo (Kunkel et al., 2001).

Situações em que se expõem os organismos aos agrotóxicos podem provocar respostas fisiológicas e bioquímicas, sendo uma delas a desintoxicação ou metabolismo do produto por enzimas (Oliveira et al., 2012). Após as primeiras 24 horas de exposição à mistura dos herbicidas, o número de fêmeas de *P. nigripinus* dispostas à cópula foi aumentado, passando a apresentar atividades locomotivas. A influência de imidaclopride na mobilidade de artrópodes benéficos mudou com o tempo (Suchail, 2001). Com a mesma dose de imidaclopride foi possível observar efeitos inversos de acordo com o período de observação (Desneux, 2007).

Para os demais tratamentos, o efeito dos herbicidas sobre a predisposição das fêmeas de *P. nigrispinus* às cópulas não foi afetado, o que sugere uma tolerância aos herbicidas isolados. Este resultado mostra que possivelmente ocorreram interações entre os ativos dos herbicidas, no tratamento composto pela mistura, onde somente duas fêmeas se mostraram predispostas à cópula nas primeiras 24 horas. Tais interações podem ser toxicocinéticas e toxicodinâmicas (Andersen & Dennison 2004), com consequente comportamento sinérgico da mistura de atrazine e nicossulfuron. Outro fator que pode justificar este comportamento pode ser relacionado com a interação das diferentes substâncias químicas presentes na formulação dos herbicidas, como solventes, surfatantes e agentes molhantes, que podem modificar o efeito do equivalente ácido do herbicida nos organismos (Malkone, 2000; Santos et al., 2004).

Estudos anteriores com os herbicidas atrazine e nicosulfuron, ambos em doses comerciais, sobre ninfas de *P. nigrispinus* mostraram uma taxa de sobrevivência afetada negativamente até o quarto estágio do predador (Menezes et al., 2012). Neste bioensaio, não houve alteração na longevidade das fêmeas, para nenhum dos tratamentos aplicados. A longevidade das fêmeas de *P. nigrispinus*, varia consideravelmente dependendo do tipo de presa e disponibilidade e das condições ambientais. Fêmeas alimentadas somente como *T. molitor* e água, apresentam longevidade em torno de 24 dias. A inclusão de plantas na dieta destes predadores aumenta a sua longevidade em até 10 dias (Torres et al., 2006).

Os resultados da ação conjugada dos fatores relacionados à alimentação e à reprodução que ocorrem entre a exposição dos herbicidas até a morte são extremamente importantes (Desneux et al., 2007). *Podisus nigrispinus* é uma espécie

considerada sinovigênica, pois necessitam de alimentação para a produção de ovos que ocorre por toda a vida, assim, uma alimentação reduzida em adultos de sinovigênicos pode reduzir a produção de ovos, o que leva à redução do seu *fitness*.

Apenas o período de pré-oviposição de *P. nigrispinus* foi maior com a dose de nicosulfuron utilizada, sendo os demais períodos de pós-oviposição e oviposição, semelhantes entre tratamentos. O mesmo foi observado para *Supputius cincticeps* expostos à concentrações subletais de permetrina (Lemos et. al., 2005). A tolerância os agrotóxicos pode ser justificada pela baixa taxa de penetração dos produtos tóxicos na cutícula deste predador, o que pode ter provocado uma rápida metabolização e/ou a alterações dos efeitos (Yu, 1988).

Alterações fisiológicas nos predadores foram observadas por meio do estudo dos parâmetros reprodutivos avaliados, com diminuição da capacidade reprodutiva das fêmeas que receberam os herbicidas. Os agrotóxicos podem atrapalhar a coordenação precisa entre o sistema nervoso e o hormonal dos insetos, resultando em um colapso destes sistemas e em uma série de eventos fisiológicos e comportamentais, relacionados com a oviposição (Desneux et al. 2007).

Muitos relatos descrevem os efeitos subletais de agrotóxicos sobre os inimigos naturais, mas apenas os testes de mortalidade são considerados quando uma escolha deve ser feita entre os vários agrotóxicos no contexto do MIP (Desneux et al. 2007). De acordo com as observações deste estudo, a longevidade das fêmeas de *P. nigrispinus* não foi influenciada pelos efeitos dos herbicidas isolados ou em mistura, porém estes provocaram uma redução na capacidade reprodutiva da espécie. Os impactos de atrazine e nicosulfuron na longevidade e mortalidade são mais agressivos

na fase imatura desta espécie (Menezes et al., 2012). Assim, são necessários mais estudos para garantir que as fêmeas, presentes no campo, sejam capazes de restabelecer a comunidade destes predadores após o contato direto com os herbicidas.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à "Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG)", "Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)" e "Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)" pela concessão da bolsa de estudos e apoio financeiro.

REFERÊNCIA

- Anderson, T.D., Lydy, M.J., 2002. Increased toxicity to invertebrates associated with a mixture of atrazine and organophosphate insecticides. *Environmental Toxicology & Chemistry* 2, 1507–1514
- Bueno, A.F., Bueno, R.C.O.F., Parra, J.R.P., Vieira, S.S., 2008. Effects of pesticides used in soybean crops to the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum*. *Ciência Rural* 38, 1495-1503.
- Bueno, A.F, Freitas, S., 2004. Effect of the insecticides abamectin and lufenuron on eggs and larvae of *Chrysoperla externa* under laboratory conditions. *BioControl* 49, 277-283.
- Camilo, S.S., Soares, M.A., Santos, J.B., Assis-Júnior, S.L., Ferreira, E.A., Menezes, C.W.G., 2012. Impactos toxicológicos de herbicidas recomendados para a cultura do milho em ninfas do predador *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae). *Revista*

Brasileira de Herbicidas 11, 339-346.

Campos, M.R., Picanço, M.C., Martins, J.C., Tomaz, A.C., Guedes, R.N.C., 2011.

Insecticide selectivity and behavioral response of the earwig *Doru luteipes*. Crop Protection 30, 1535–1540.

Carmo, E.L., Bueno, A.F., Bueno, R.C.O.F, 2010. Pesticide selectivity for the insect egg parasitoid *Telenomus remus*. BioControl 55, 455-464.

Carvalho, R.S., Carvalho, R.S., Vilela, E.F., Borges, M., Zanuncio, J.C., Aldrich, J.R., 1994. Ritmo do comportamento de acasalamento e atividade sexual de *Podisus connexivus* Bergroth (Heteroptera: Pentatomidae: Asopinae). Anais Sociedade Entomológica do Brasil 23, 197-202.

Carvalho, R.S., Vilela, E.F., Borges, M., Zanuncio, J.C., 1995. Comportamento de acasalamento do predador *Podisus nigrispinus* (Dallas), em laboratório. Anais Sociedade Entomológica do Brasil 24, 165-171.

Chapman, T., Neubaum, D.M., Wolfner, M.F., Partridge, L. 2000. The role of male accessory gland protein Acp36DE in sperm competition in *Drosophila melanogaster*. Proceedings of the Royal Entomological Society of London B 267, 1097-1105.

Cloyd, R.A., Bethke, J.A., 2011. Impact of neonicotinoid insecticides on natural enemies in greenhouse and interior scape environments. Pest Management Science 67, 3-9.

Desneux, N., Decourtye, A., Delpuech, J.M., 2007. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. Annual Review of Entomology 52, 81–106.

Edvardsson, M., Arnqvist, G., 2000. Copulatory courtship and cryptic female choice in red flour beetles. Proceedings of the Royal Society of London B 267, 559-563.

- Greco, W.R., Bravo, G., Parsons, J.C., 1995. The search for synergy: a critical review from a response surface perspective. *Pharmacol Reviews* 47,332–385.
- Griesinger, L.M., Evans, S.C., Rypstra, A.L., 2011. Effects of a glyphosate-based herbicide on mate location in a wolf spider that inhabits agroecosystems. *Chemosphere* 84, 1461–1466.
- Grosman, A.H., Breemen M.V., Holtz A.M., Pallini A., Molina-Rugama, A.J., Pengel, H., Venzon, M., Zanuncio, J.C., Sabelis, M.W., Janssen, A, 2005. Searching behaviour of an omnivorous predator for novel and native host plants of its herbivores: a study on arthropod colonization of eucalyptus in Brazil. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 116, 135-142.
- He, Y., Zhao, J., Zheng, Y., Desneux, N., Wu, K., 2012. Lethal effect of imidacloprid on the coccinellid predator *Serangium japonicum* and sublethal effects on predator voracity and on functional response to the whitefly *Bemisia tabaci*. *Ecotoxicology* 21, 1291–1300.
- Hough-Goldstein, J.A., Vangessel, M.J., WILSON, A.P., 2004. Manipulation of weed communities to enhance ground-dwelling arthropod populations in herbicide-resistant field corn. *Environmental Entomology* 33, 577-586.
- Kunkel, B.A., Held, D.W., Potter, D.A., 2001. Lethal and sublethal effects of bendiocarb, halofenozide, and imidacloprid on *Harpalus pennsylvanicus* (Coleoptera: Carabidae) following different modes of exposure in turfgrass. *Journal of Economic Entomology* 94, 60–67.
- Lemos, W.P., Ramalho, F.S., Serrão, J.E., Zanuncio, J.C., 2005. Morphology of female reproductive tract of the predator *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera:

Pentatomidae) fed on different diets. Brazilian Archives of Biology and Technology 48,129-138.

Lundgren, J.G., 2011. Reproductive ecology of predaceous heteroptera. Biological Control 59, 37–52.

Marshall, E.J.P., Brown, V.K., Boatman, N.D., Lutman, P.J.W., Squire, G.R., Ward, L.K., 2003. The role of weeds in supporting biological diversity within crop fields. Weed Research 43, 77-89.

Mahdian, K., Leeuwen, T.V., Tirry, L., De Clercq, P., 2007. Susceptibility of the predatory stinkbug *Picromerus bidens* to selected insecticides. Biocontrol 52, 765-774.

Malkones, H.P., 2000. Comparison of the effects of differently formulated herbicides on soil microbial activities – A review. Journal of Plant Diseases and Protection 8, 781-789.

Menezes, C.W.G., Santos, J.B., Assis Júnior, S.L., Fonseca, A.J., França, A.C., Soares, M.A., Fernandes, A.F., 2012. Seletividade de atrazine e nicosulfuron a *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). Planta Daninha 30, 327-334.

Msebah, A.H., El-Husseini, M.M., 2009. Effect of weed borders on insect pests and their associated predators on sugar beet and cotton plant fields. Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, 2, 73- 80.

Norris, R.F., Kogan, M., 2000. Interactions between weeds, arthropod pests, and their natural enemies in managed ecosystems. Weed Science 48, 94-158.

Oliveira, S.O.D., Barbosa, W.F., Malqui, K. S. V., Guedes, R.N.C., 2012. Mating behavior of the predator *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) under exposure to neem. Chilean Journal of Agricultural Research 72, 523-527.

- Rodrigues, A.R.S., J.B. Torres, H.A.A. Siqueira, V.W. Teixeira. 2009. *Podisus nigrispinus* requer cópulas longas para o sucesso reprodutivo. *Neotropical Entomology* 38, 746-753.
- Rodrigues, A.R.S., Serrão, J.E., Teixeira, W.W., Torres J.B., Teixeira, A.A., 2008. Spermatogenesis, changes in reproductive structures, and time constraint associated with insemination in *Podisus nigrispinus*. *Journal of Insect Physiology* 54: 1543-1551.
- Sá, V.G.M., Zanuncio, J.C., Soares, M.A., Rosa, C.S., Serrão, J.E., 2013. Morphology and postdepositional dynamics of eggs of the predator *Podisus distinctus* (Stål) (Heteroptera: Pentatomidae: Asopinae). *Zootaxa* 3641, 282-288.
- Santos, J.B., Jacques, R.J.S., Procópio, S.O., Kasuya, M.C.M., Silva, A.A., Santos, E.A., 2004. Efeitos de diferentes formulações comerciais de glyphosate sobre estirpes de *Bradyrhizobium*. *Planta Daninha* 22, 293-299.
- Soares, M.A., Batista, J.D., Zanuncio J.C., Lino-Neto J., Serrão J.E., 2011. Ovary development, egg production and oviposition for mated and virgin females of the predator *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). *Acta Scientiarum. Agronomy* 33, 597-602.
- Suchail, S., Guez, D., Belzunces, L.P., 2001. Discrepancy between acute and chronic toxicity induced by imidacloprid and its metabolites in *Apis mellifera*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 20, 2482–86.
- Torres, J.B., Zanuncio, J.C., Moura, M.A., 2006. The predatory stinkbug *Podisus nigrispinus*: biology, ecology and augmentative releases for lepidoperan larval control in *Eucalyptus* in Brazil. *Biocontrol News and Information* 27, 1-18.
- Zanuncio, J.C., Didonet, J., Santos, G.P., Zanuncio, T.V., 1992. Determinação da

idade ideal para o acasalamento de fêmeas de *Podisus connexivus* Bergroth, 1891 (Hemiptera: Pentatomidae) visando uma criação massal. Revista Árvore 16, 362-367.

Zanuncio, J.C., Silva, C.A.D., Lima, E.R.L., Pereira, F.F. Ramalho F.S. Serrão, J.E., 2008. Predation rate of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae with and without defense by *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). Brazilian Archives of Biology and Technology 51, 121-125.

Tabela 1 – Média \pm desvio padrão do tempo de cópula e longevidade de fêmeas de *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae) expostas a atrazine e nicosulfuron.

Tratamento	Numero de fêmeas	Longevidade (dias)	Tempo de cópula (horas)	Número de fêmeas acasaladas em 24 horas
Controle	12	22,08 \pm 11,41 ^a	13,8 \pm 4,15a	10a
Atrazine	12	15,00 \pm 8,34 ^a	15,14 \pm 2,26a	7a
Nicosulfuron	12	22,08 \pm 8,81 ^a	11,1 \pm 4,14a	10a
Blend	12	18,75 \pm 10,21 ^a	10 \pm 9,89a	2b

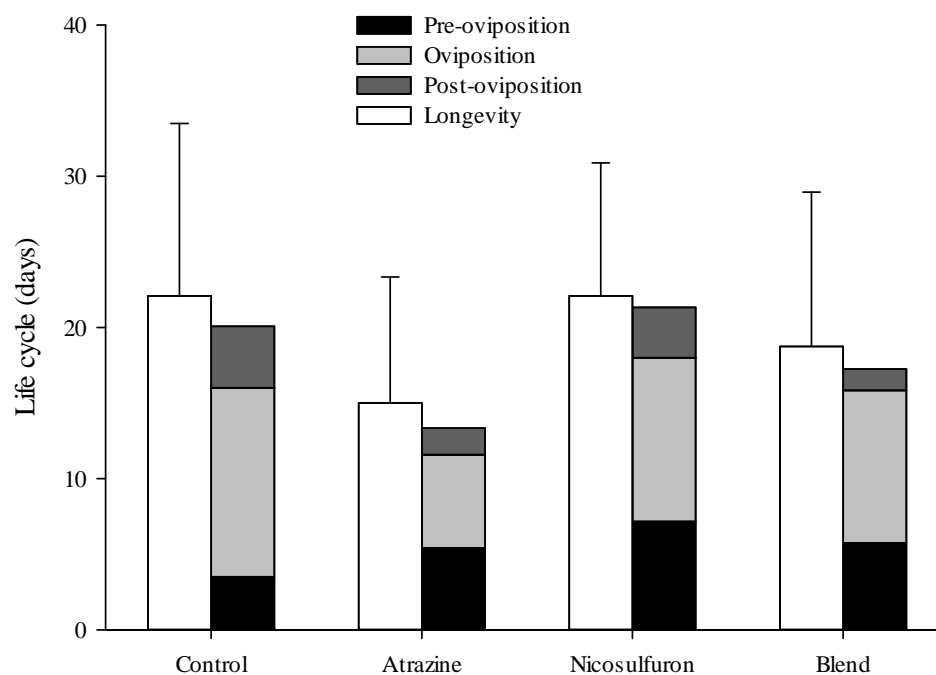
Colunas seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 2. Média \pm desvio padrão das características reprodutivas de *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae) exposto a atrazine e nicosulfuron.

Tratamento	Período de pré-oviposição (dias)	Período de pós oviposição (dias)	Período de oviposição (dias)	Número de ovos produzidos por fêmea	Viabilidade %
Controle	4,67 \pm 2,45a	5,44 \pm 2,40 ^a	16,67 \pm 9,68a	173,0b	76%a
Atrazine	7,22 \pm 4,41a	2,33 \pm 2,50 ^a	8,22 \pm 3,63a	74,5a	62%a
Nicosulfuron	8,60 \pm 2,67b	4,00 \pm 2,40 ^a	13,00 \pm 7,85a	92,8a	71%a
Blend	6,90 \pm 2,38a	1,7 \pm 2,36 ^a	12,10 \pm 9,52a	81,2a	72%a

Colunas seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Figura 1. Período de pré-oviposição, oviposição e pós-oviposição em todo o ciclo de vida da fêmea de *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae) exposto a atrazine e nicosulfuron.



CAPITULO II

MORFOLOGIA E HISTOLOGIA DAS ESTRUTURAS REPRODUTIVAS DAS FÊMEAS DE *Podisus nigrispinus* (STAL) (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE) EXPOSTAS A ATRAZINE E NICOSULFURON

RESUMO

Podisus nigrispinus pode ter sua eficiência, como agente de controle biológico, afetada pelo uso de herbicidas que podem interferir em rotas metabólicas não alvo alterando assim seu *fitness*. Desta forma, foram avaliados, em doses comerciais, os efeitos ecotoxicológicos causados pelos herbicidas atrazine, nicosulfuron e mistura (atrazine + nicosulfuron), na morfologia e histologia das estruturas reprodutivas das fêmeas de *P. nigrispinus*. Aos quatro dias de idade, quinze fêmeas adultas de *P. nigrispinus*, por tratamento, receberam água ou a dose de 1,5 g L⁻¹ atrazine ; 0,3 g L⁻¹ nicosulfuron ; 1,5 g L⁻¹ + 0,3 g L⁻¹, atrazine + nicosulfuron. Após seis horas de exposição, as fêmeas foram transferidas para placas de Petri (10 cm), com um macho de *P. nigrispinus* para cada fêmea. Sete dias após a sua emergência, três fêmeas de *P. nigrispinus*, oriundas de cada tratamento foram dissecadas. Foi observado o desenvolvimento e maturação dos ovócitos, feita a contagem do número de ovócitos maduros e imaturos, do número de ovários e comparações da histologia das estruturas reprodutivas. Independente do tratamento aplicado neste bioensaio, os ovários de *P. nigrispinus* não apresentaram diferenças morfológicas e histológicas. A quantidade de ovócitos encontrado em cada ovário está fortemente relacionada com

a fertilidade. Fêmeas de *P. nigrispinus*, expostas aos herbicidas apresentaram ovariários com menor número de ovócitos sendo a maioria imatura, evidenciando que os herbicidas atrazine e nicosulfuron alteram a capacidade reprodutiva desta espécie.

Palavras-chave: Inimigos naturais, Seletividade, Efeito subletal, Reprodução, Estruturas Reprodutivas.

**MORPHOLOGY AND HISTOLOGY OF THE STRUCTURES OF FEMALE
REPRODUCTIVE *Podisus nigrispinus* (STAL) (HEMIPTERA:
PENTATOMIDAE) EXPOSED TO ATRAZINE AND NICOSULFURON**

Abstract

Podisus can have their efficiency as biological control agent affected by the use of herbicides that can interfere with metabolic pathways not target thus changing your fitness. Thus, were evaluated in commercial doses, the ecotoxicological effects caused by atrazine, nicosulfuron and mixture (atrazine + nicosulfuron), the morphology and histology of the female reproductive structures of the predator. At four days of age, fifteen adult females of the predator by treatment received water or the dose of 1.5 g L⁻¹ atrazine, 0.3 g L⁻¹ nicosulfuron, 1.5 g L⁻¹ + 0, 3 g L⁻¹ atrazine + nicosulfuron. After six hours of exposure, the females were transferred to Petri dishes (10 cm), with a male of the predator for each female. Seven days after their emergence, three females of the predator, arising from each treatment were dissected. The development and maturation of oocytes, made by counting the number of immature and mature oocytes, number of ovarioles histology and comparisons of reproductive structures was observed. Regardless of the treatment applied in this bioassay, the ovaries of the predator showed no morphological and histological differences. The number of oocytes found in each ovariole is strongly related to fertility. Females of the predator exposed to herbicides had fewer ovarioles with oocytes being the most immature, showing that atrazine and nicosulfuron alter the reproductive capacity of this species.

Keywords: Natural enemies, selectivity, sublethal effects, Reproduction, Reproductive Structures.

1. INTRODUÇÃO

Hemípteras predadores estão presentes nos mais diversos agroecossistemas e são capazes de reduzir o uso de produtos químicos no controle a insetos pragas (Lacerda et al. 2004; Lundgren, 2011). Nessa ordem, uma das espécies que se destaca como um importante agente de controle biológico de pragas é o predador *Podisus nigrispinus* (Stal) (Heteroptera: Pentatomidae), esse percevejo ataca mais de 30 espécies de pragas de importância econômica e possui ocorrência natural em diversos agroecossistemas (Zanuncio et al., 2003; Freitas et al., 2006; Torres et al., 2006). Sua utilização, além de representar uma alternativa ao controle químico, reduz os custos de produção e impactos ambientais (Matos Neto et al., 2004).

Sua eficiência como agente de controle biológico está relacionada com condições (abióticas e bióticas) que garantam a sua permanência no campo, sem causar alterações no seu comportamento (Torres et al., 2006; Stark et al. 2007; Martinou et al. 2014). O uso de agrotóxicos pode interferir em rotas metabólicas não alvo presentes nestes insetos alterando assim seu *fitness*, na sua capacidade reprodutiva e dinâmica populacional (Torres et al., 2006; Camilo et al. 2012; Menezes et al. 2012).

Podisus nigrispinus podem ser introduzidos antes do estabelecimento da praga, prevenindo o seu crescimento populacional, podendo estar presentes no campo por todo ciclo da cultura (De Clercq & Degheele 1992; De Clercq, 2002). A fecundidade dos inimigos naturais pode ser negativamente afetada pelo uso de agrotóxicos, incluindo substâncias químicas controladoras de plantas daninhas (Desneux et al. 2007; Oliveira et al., 2012), o que compromete a sua permanência no campo. Esta

condição pode ser responsável por variações nos órgãos reprodutivos destes organismos afetando sua reprodução (Desneux, 2004).

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar, em doses comerciais, os efeitos ecotoxicológicos causados pelos herbicidas utilizados na cultura do milho, sobre a morfologia e histologia das estruturas reprodutivas das fêmeas de *P. nigrispinus*.

2. MATERIAS E MÉTODOS

2.1. OBTENÇÃO DAS FÊMEAS DE *P. nigrispinus*

Ovos de *P. nigrispinus* foram oriundos da criação do Laboratório de Controle Biológico de Insetos da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM, onde este predador é criado a $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de umidade relativa e fotofase de 12 horas. Duzentos ovos com menos de 24 horas foram coletados e dispostos em potes plásticos de 500 mL com um chumaço de algodão umedecido com água (Menezes et al., 2012), prevenindo-os de um possível ressecamento. Ao atingirem o 3º estágio as ninfas de *P. nigrispinus* foram separadas em grupo de cinco para evitar o canibalismo. Durante todo o experimento, ninfas e adultos foram alimentados com pupas de *Tenebrio molitor* (Linnaeus) (Coleoptera: Tenebrionidae) *ad libitum* (Torres et al., 2006) reproduzidas no Laboratório de Controle Biológico de Insetos da UFVJM. Após a emergência, os adultos de *P. nigrispinus* foram sexados pela aparência externa da genitália (Lemos et al., 2005). Na morte dos machos durante os bioensaios, os mesmos foram substituídos por outros machos de mesma idade.

2.2. COMPOSIÇÃO DOS TRATAMENTOS

Os tratamentos foram dispostos em delineamento inteiramente casualizado com doze repetições, compostos pelo controle (água destilada) e pelos herbicidas atrazine (Primóleo® 400g i.a/L), nicosulfuron (Sanson® 40g i.a./L) e em mistura (atrazine (Primóleo® 400g i.a/L) + nicosulfuron (Sanson® 40g i.a./L)). A dose dos herbicidas foi calculada de acordo com o diâmetro médio do pote plástico de 500 mL.

2.4. APLICAÇÃO DOS TRATAMENTOS

Aos quatro dias de idade como adulta, quinze fêmeas de *P. nigrispinus*, por tratamento, foram individualizadas em potes plásticos de 500 mL, forrados com folhas de milho para evitar o contato da fêmea com excesso do produto. Para a aplicação utilizou-se uma seringa de 1 mL, com agulha adaptada para pulverização, aspergindo-se 0,26 mL de água destilada; 1,5 gL⁻¹ de atrazine; 0,3 gL⁻¹ de nicosulfuron e 1,5gL⁻¹ + 0,3 gL⁻¹ da mistura, atrazine + nicosulfuron, correspondentes à recomendação de 6 e 1,5 Lha⁻¹ dos produtos comerciais Primóleo® 400g i.a/L e Sanson® 40g i.a./L, respectivamente. A aplicação foi feita diretamente sobre as fêmeas (Menezes et al., 2012). Após seis horas, tempo necessário para a penetração do herbicida nas folhas do milho, as fêmeas foram transferidas para placas de Petri (10 cm), com um macho de *P. nigrispinus* para cada fêmea.

2.4. ANÁLISE MORFOLÓGICA - OBTENÇÃO DE OVÁRIOS

Sete dias após a sua emergência, três fêmeas de *P. nigrispinus* oriundas de cada tratamento, descrito anteriormente, foram dissecadas em solução salina no Laboratório de Histologia da UFVJM. Foi observado o desenvolvimento e maturação dos ovócitos

em cada ovário e a contagem do número de ovócitos maduros e imaturos e do número de ovários (Soares et al., 2011). Os ovários de *P. nigrispinus* foram fotografados com câmera digital de 16.1 megapixels acoplada ao microscópio estereoscópico. Logo após a extração, os ovários foram transferidos imediatamente para a solução fixadora Bouwin.

2.5. ANÁLISE HISTOLÓGICA - PREPARAÇÃO DOS OVÁRIOS

Ovários de *P. nigrispinus* previamente fixados em solução Bouwin por 24 h à temperatura ambiente, foram desidratados em série crescentes de etanol (70%, 80% e 95%) incluídos em historesina (Leica). Cortes semi-finos, com seções de 5 µm de espessura foram realizados no Laboratório de Biologia Molecular e Celular, Citogenética e Histologia Reprodutiva da Universidade Federal de Viçosa – UFV, por meio do ultra-micrótomo Leica Ultracut UCT e corados em solução aquosa de hematoxilina e eosina. Após a coloração, os cortes foram rapidamente lavados em água destilada para se retirar o excesso de corante e posterior secagem, antes da montagem de lâmina em Entelan (Merck). Foram realizadas comparações da histologia destas estruturas, conforme os diferentes tratamentos aplicados sobre as fêmeas de *P. nigrispinus*.

3. RESULTADOS

3.1 – AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA DOS OVÁRIOS DE *P. nigrispinus*

O sistema reprodutivo das fêmeas de *P. nigrispinus* submetidas aos herbicidas apresentaram estruturas semelhantes ao controle (fig.01). Independente do tratamento

aplicado cada ovário de *P. nigrispinus* era composto por sete ovaríolos, dois ovidutos laterais e um oviduto comum. Os ovaríolos estavam unidos na extremidade inferior, formando o oviduto lateral. Por sua vez, os ovidutos laterais unidos e formando o oviduto comum. Os ovários estavam suspensos na cavidade do corpo do inseto, localizado na região abdominal, por filamentos terminais e na extremidade inferior pelos ovidutos laterais. Os filamentos terminais estavam interligados aos ovaríolos, formando um grupo de estrutura compacta. Cada ovário pôde ser descrito como uma série de tubos de afilamentos de ovos, os ovaríolos, tipificados como longos tubos rodeados por uma rede traqueal que contém uma progressão de desenvolvimento de ovócitos. Embora os tratamentos aplicados sobre as fêmeas de *P. nigrispinus* não tenham afetado a morfologia destas estruturas, foi observado menor número de ovócitos maduros nestes. O atraso no desenvolvimento dos ovócitos gerou menor taxa de reprodução, porém com semelhante viabilidade entre os tratamentos (tabela 01). A figura 01 expõe de forma mais evidente, uma rede traqueal e um corpo gorduroso no aparelho reprodutor das fêmeas expostas aos herbicidas atrazine e nicosulfuron.

3.2 – AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DOS OVÁRIOS DE *P. nigrispinus*

Os estudos histológicos mostraram que os ovários de *P. nigrispinus* não sofreram alterações nas células de seus tecidos pelo contato direto das fêmeas com os herbicidas, atrazine, nicosulfuron. Todos os ovários apresentaram a estrutura do tipo meroístico telotrófico. A figura 02 (A) apresenta um ovaríolo dividido em um filamento terminal, um germário ou trofário e o vitelário. O vitelário, região posterior ao trofário, sendo a região mais extensa do ovário, na qual os ovócitos sofrem

modificações morfo-funcionais, resultando no completo desenvolvimento ou maturação do ovo. Na figura 02 (B) os ovócitos passam pelos processos de vitelogênese e coriogênese, em arranjo linear, onde os ovócitos mais desenvolvidos apresentaram um aumento do volume e uma maior quantidade de vitelo. O germário (fig.02 C) é o sítio de divisão e diferenciação das células germinativas. Local onde ocorre a formação dos cistos, grupo de células germinativas diferenciadas, onde a partir desses serão originados os trofócitos e os ovócitos, juntamente com as células somáticas, formando os folículos ovarianos. A figura 02 D, retrata as células foliculares circundando, por meio de uma única camada, os ovócitos. Entre as células da camada circundante, há uma interrupção que serve de canais nutritivos para os ovócitos. Foi observado em todos os tratamentos, ovócitos em avançado estágio de desenvolvimento, com células foliculares mais compactas adquirindo maior espessura com o crescimento dos ovócitos (Fig. 02 D). Durante o processo da vitelogênese, ocorre a intensificação do metabolismo das células foliculares (fig.02 E). Não foi observada morte das células foliculares dos ovários de fêmeas expostas aos herbicidas.

4. DISCUSSÃO

Existem poucos relatos sobre a morfologia e histologia do sistema reprodutivo de fêmeas de percevejos, com potencial para serem utilizadas como agentes do MIP, relacionados aos efeitos de agrotóxicos nessas estruturas.

Os ovários de *P. nigrispinus* foram semelhantes, morfologicamente e histologicamente, independente do tratamento aplicado neste bioensaio. Evidenciamos

que fêmeas de *P. nigrispinus*, expostas aos herbicidas atrazine, nicosulfuron e mistura destes apresentou ovaríolos com ovócitos, em um mesmo ovário, com semelhantes estádios de desenvolvimento. Cada ovaríolo de um mesmo ovário apresenta-se com estádio de desenvolvimento semelhante, sem que exista diferença de gradientes entre eles (Buning, 1994; Lemos et al., 2005; 2006). Porém, os ovários tratados com os herbicidas, apresentaram um menor número de ovócitos, sendo a maioria imatura. Isto provocou menor taxa reprodutiva, devido ao efeito subletal dos herbicidas no desenvolvimento dessas estruturas (Vandekerkhove, 2006; Lundgren, 2011).

O hormônio juvenil (JH) está relacionado com o metabolismo geral, agindo no corpo dos insetos como um todo. Na tentativa de isolamento do JH, não foi evidenciado processos bioquímicos independentes deste hormônio (Novák, 1975). Secretado pela glândula corpora allata (CA), este hormônio é essencial para a plena expressão da produção de ovos na maioria dos insetos adultos (Davey, 2007).

Este estudo mostra que os herbicidas atrazine e nicosulfuron poderiam afetar o metabolismo do HJ, causando um acúmulo de ovócitos pré-vitelogênicos. A ausência do HJ pode afetar os espaços entre as células foliculares, não permitindo a deposição de vitelogenina, causando um acúmulo de ovócitos pré-vitelogênicos. Caso o fornecimento do HJ seja normalizado, provavelmente, ocorre o restabelecimento da ovogênese (Kotaki, 1996; Davey, 2000; 2007).

A presença pronunciada do tecido corpo gorduroso nos ovários de *P. nigrispinus* nos tratamentos com os herbicidas não pôde ser comprovada neste experimento, pois não foi possível sua quantificação. Mas outros estudos relatam que, para a maioria dos insetos, a síntese de vitelogenina, controlada pelo HJ, tem sua ação

estimulada pelo corpo gorduroso (Davey, 2007). Assim, com a quantificação do corpo gorduroso, seria possível comprovar que o aumento deste nas fêmeas de *P. nigripinus* é uma estratégia para garantir a síntese da vitelogenina, com conseguinte maturação dos seus ovos. É possível hipotetizar que o corpo gorduroso está em processo de desintoxicação, o que justificaria seu aumento de volume, uma vez que sua função é também de defesa, e por este motivo a indução da produção de vitelogenina foi menor para permitir a maturação dos ovócitos.

Fêmeas de *P. nigripinus* são capazes de criar estratégias para manter a maturação de seus ovócitos e assim garantir a reprodução na presença dos herbicidas atrazine e nicosulfuron, mas com menor taxa de perpetuação da espécie. Mais estudos podem ser elaborados, com o objetivo de determinar a presença do corpo gorduroso e inferir a sua participação na produção de vitelogenina em fêmeas expostas aos herbicidas atrazine e nicosulfuron.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à "Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG)", "Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)" e "Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)" pela concessão da bolsa de estudos e apoio financeiro. À professora Conceição Aparecida dos Santos e o técnico Samuel Giordini do laboratório de Histologia da UFVJM, pelo apoio e preparação do material para os cortes. Ao professor José Eduardo Serrão e a Ana Fátima Gomes do Laboratório de Biologia Molecular e Celular, Citogenética e Histologia Reprodutiva da UFV, pela orientação, análise e registro fotográfico do material.

REFERÊNCIAS

- Büning, J., 1994. The Insect Ovary - Ultra structure, Previtellogenic Growth and Evolution. Chapman & Hall 2, 324 pp.
- Camilo, S.S., Soares, M.A., Santos, J.B., Assis-Júnior, S.L., Ferreira, E.A., Menezes, C.W.G., 2012. Impactos toxicológicos de herbicidas recomendados para a cultura do milho em ninfas do predador *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae). Revista Brasileira de Herbicidas 11, 339-346.
- Davey, K.G., 2000. The modes of action of juvenile hormones: some questions. Insect Biochemistry and Molecular Biology 30, 663–670.
- Davey, K., 2007. The interaction of feeding and mating in the hormonal control of egg production in *Rhodnius prolixus*. Journal of Insect Physiology 53, 208-215.
- De Clercq, P., Degheele, D., 1992. Influence of feeding interval on reproduction and longevity of *Podisus sagitta* (Het.: Pentatomidae). Entomophaga 37, 583-590.
- De Clercq, P., 2002. Dark clouds and their silver linings: Exotic generalist predators in augmentative biological control. Neotropical Entomology 31, 169-176.
- Desneux, N., Pham-Delègue, M.H., Kaiser, L., 2004. Effects of sublethal and lethal doses of lambda-cyhalothrin on oviposition experience and host searching behaviour of a parasitic wasp *Aphidius ervi*. Pest Management Science 60, 381–389.
- Desneux, N., Decourtye, A., Delpuech, J.M., 2007. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. Annual Review of Entomology 52, 81–106.
- Freitas, S.P.C., Evangelista JR., W.S., Zanuncio, J.C., Serrão, J.E., 2006. Development, survival and reproduction of *Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851)

(Heteroptera: Pentatomidae) with salt and amino acids solution supplementary diet. Brazilian Archives of Biology and Technology 49, 449-455.

Kotaki, T., 1996. Evidence for a new juvenile hormone in a stink bug, *Plautia stali*. Journal of Insect Physiology 42, 279–286.

Lacerda, M.C., Ferreira, A.M.R.M., Zanuncio, T.V., Zanuncio, J.C., Bernardino, A.S. & Espindula, C., 2004. Development and reproduction of *Podisus distinctus* (Heteroptera: Pentatomidae) fed on larva of *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). Brazilian Journal of Biology 64, 237-242.

Lemos, W.P., Ramalho, F.S., Serrão, J.E., Zanuncio, J.C., 2005. Morphology of female reproductive tract of the predator *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) fed on different diets. Brazilian Archives of Biology and Technology 48, 129-138.

Lemos, W.P., Ramalho, F.S., Serrão, J.E., Zanuncio, J.C., Baucé, E., 2006. Diet affects reproduction and number of oocytes per ovary of the predator *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae). Animal Biology 56, 279-287.

Lemos, W.P., Zanuncio, J.C., Ramalho, F.S., Zanuncio, T.V., Serrão, J.E., 2010. Herbivory affects ovarian development in the zoophytophagous predator *Brontocoris tabidus* (Heteroptera: Pentatomidae). Journal of Pest Science 83, 69–76.

Lundgren, J.G., 2011. Reproductive ecology of predaceous Heteroptera. Biological Control 59, 37–52.

Martinou, A.F., Seraphides, N., Stavrínides, M.C., 2014. Lethal and behavioral effects of pesticides on the insect predator *Macrolophus pygmaeus*. Chemosphere 96, 167-173.

- Matos Neto, F.C., Oliveira, H.N., Zanuncio, J.C., Holtz, A.M., Oliveira, I., Fialho, M.C.Q., 2004. Ganancia de peso del depredador *Podisus distinctus* (Heteroptera: Pentatomidae) en combinaciones de las presas *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) y *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). Revista de Biología Tropical 52, 101-108.
- Menezes, C.W.G., Santos, J.B., Assis Júnior, S.L., Fonseca, A.J., França, A.C., Soares, M.A., Fernandes, A.F., 2012. Seletividade de atrazine e nicosulfuron a *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). Planta Daninha 30, 327-334.
- Novák, V.J.A., 1975. Insect Hormones, Chapman & Hall 2, 600p.
- Oliveira, S.O.D., Barbosa, W.F., Malqui, K.S.V., Guedes, R.N.C., 2012. Mating behavior of the predator *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) under exposure to neem. Chilean Journal of Agricultural Research 72, 523-527.
- Stark, J.D., Vargas, R., Banks, J.E., 2007. Incorporating ecologically relevant measures of pesticide effect for estimating the compatibility of pesticides and biocontrol agents. Journal of Economic Entomology 100, 1027-1032.
- Soares, M.A., Batista, J.D., Zanuncio, J.C., Lino-Neto, J., Serrão, J.E., 2011. Ovary development, egg production and oviposition for mated and virgin females of the predator *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). Acta Scientiarum. Agronomy 33, 597-602.
- Torres, J.B., Zanuncio, J.C., Moura, M.A., 2006. The predatory stinkbug *Podisus nigrispinus*: biology, ecology and augmentative releases for lepidopteran larval control in *Eucalyptus* in Brazil. Biocontrol News and Information 27, 1-18.

Zanuncio, T.V., Serrão, J.E., Zanuncio, J.C., Guedes, R.N.C., 2003. Permethrin-induced hormesis on the predator *Supputius cincticeps* (Stål, 1860) (Heteroptera: Pentatomidae). Crop Protection 22, 941-947.

Figure 1. Ovários de *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae) em diferentes tratamentos: controle (A), a atrazina (B), mistura (atrazine + nicosulfuron) (C), nicosulfuron (D). Barras = 2 mm.

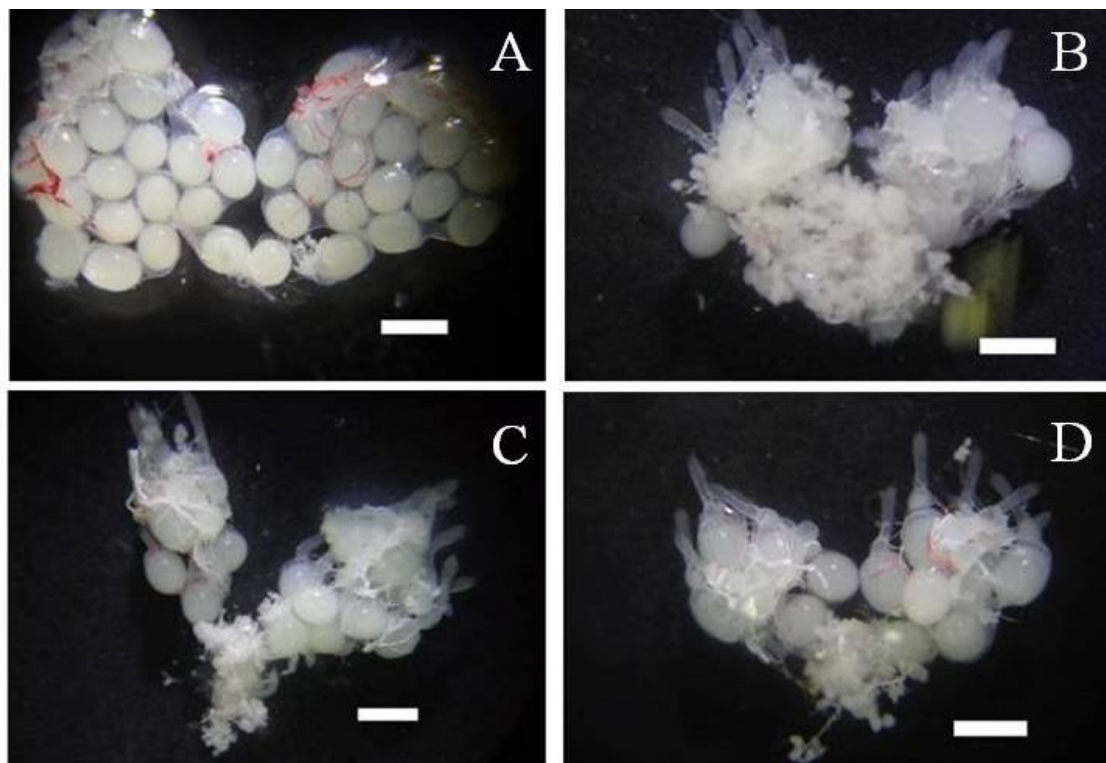
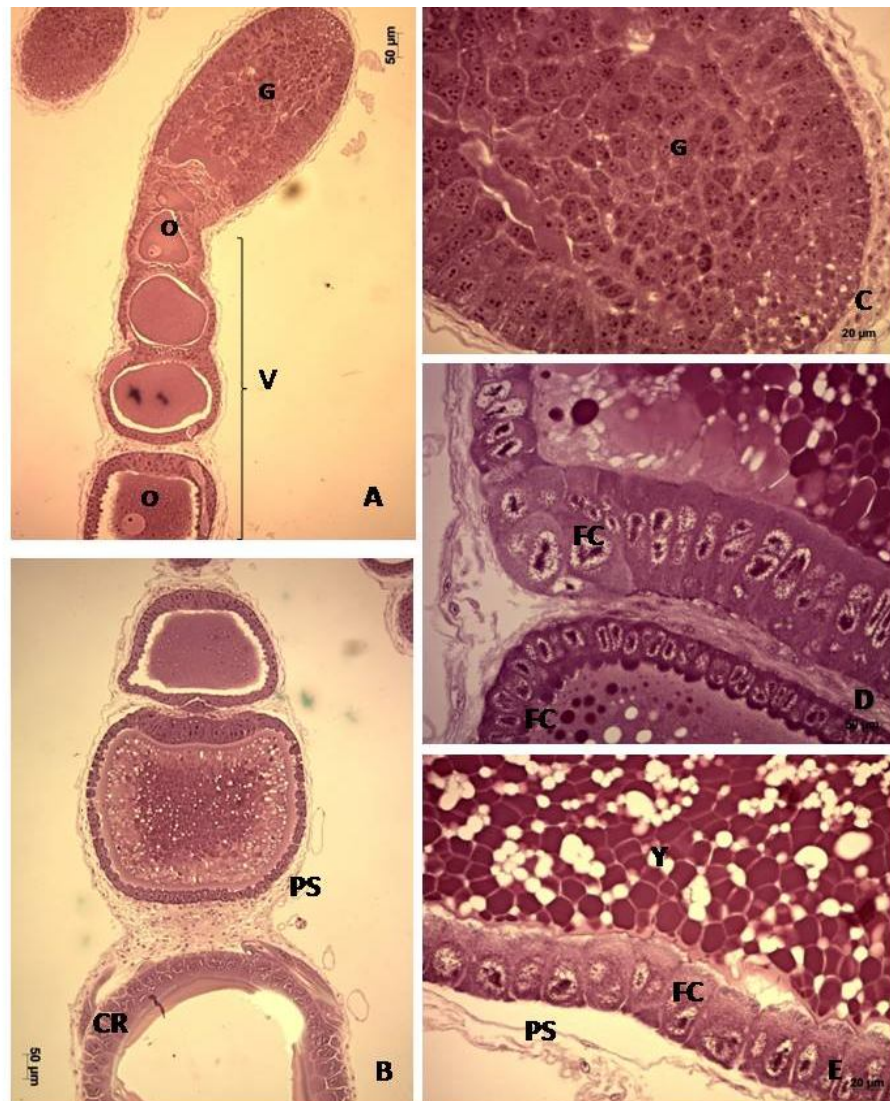


Tabela 01. A média \pm desvio padrão de número de ovócitos maduros e imaturos de *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae).

Tratamento	Ovócitos maduros	Ovócitos imaturos	Taxa reprodutiva	Viabilidades dos ovos (%)
Controle	25 \pm 5,19 a	9,33 \pm 3,78 a	173,0 a	76 ^a
Atrazine	3,33 \pm 2,88 b	14,0 \pm 3,60 a	74,5 a	62 ^a
Nicosulfuron	5,67 \pm 5,93 b	11,3 \pm 1,53 a	92,8 a	71 ^a
Blend	7,33 \pm 6,42 b	13,33 \pm 2,08 a	81,2 a	72 ^a

Columns followed by same letter do not differ between them by “Tukey” test with 5% probability

Figure 2. Corte longitudinal do ovário do predador *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae) em diferentes estágios de desenvolvimento. A,B) Vista geral de ovócitos em diferentes fases de desenvolvimento e com arranjo linear. C) Região germário. D, E) Detalhes de células do folículo em diferentes estágios de desenvolvimento. G, germário; O, oócito; V, vitelário; FC, células do folículo; Y, gema; PS, peritoneal; CR, corion.



CONSIDERAÇÕES FINAIS

As doses dos herbicidas atrazine e nicosulfuron recomendadas comercialmente são capazes de provocar efeitos subletais sobre as fêmeas de *P. nigrispinus*. Não ocorrendo, porém, alterações morfológicas e histológicas em seu sistema reprodutivo que pudessem tornar inviável a reprodução.

O impacto maior destes herbicidas em adultos deste predador está relacionado com a capacidade da fêmea de *P. nigrispinus* em manter níveis populacionais adequados da sua espécie no campo. A redução na capacidade reprodutiva pode comprometer sua adaptação no campo, alterando a eficiência dessa espécie como agente de controle biológico.

Estudos que visam selecionar os agrotóxicos para o uso de forma compatível com o MIP, consideram apenas os testes de mortalidade. Estes não incluem impactos na capacidade reprodutiva das espécies, sendo necessário mais trabalhos para avaliar se fêmeas predadoras expostas a atrazine e nicosulfuron são capazes de restabelecer a comunidade destes predadores.